(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年8月27日(27.08.2020)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2020/170727 A1

(51) 国際特許分類:
C12M 1/10 (2006.01) *C12N 5/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2020/002925

(22) 国際出願日： 2020年1月28日(28.01.2020)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2019-026960 2019年2月18日(18.02.2019) JP

(71) 出願人: 富士フイルム株式会社(**FUJIFILM CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布２丁目２６番３０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 中井 優貴(**NAKAI, Yuki**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).

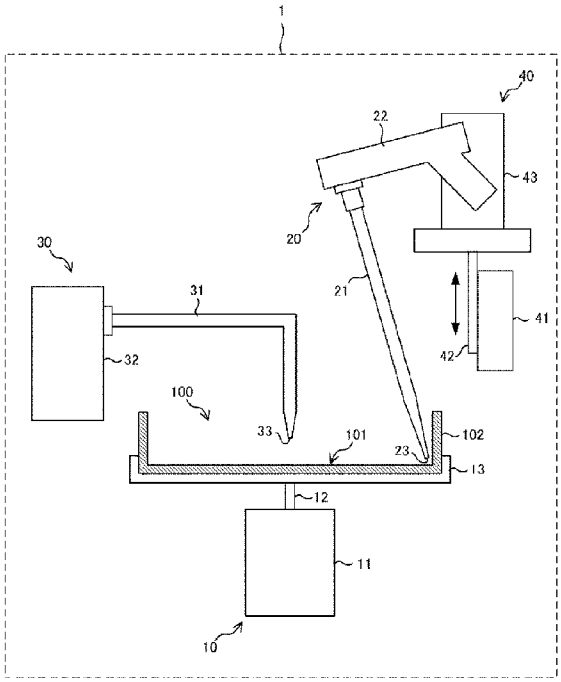
(74) 代理人: 特許業務法人太陽国際特許事務所(**TAIYO, NAKAJIMA & KATO**); 〒1600022 東京都新宿区新宿４丁目３番１７号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,

(54) **Title:** METHOD FOR RECOVERING CELLS AND DEVICE FOR RECOVERING CELLS

(54) 発明の名称： 細胞回収方法及び細胞回収装置



(57) **Abstract:** In the present invention, a culture vessel containing cells is rotated about a rotation axis intersecting the bottom surface of the culture vessel, a liquid is sprayed to the center of rotation of the bottom surface of the culture vessel before or during rotation of the culture vessel, the cells are unevenly distributed at an outer peripheral part of the bottom surface of the culture vessel, and the cells unevenly distributed at the outer peripheral part of the bottom surface of the culture vessel are recovered.

(57) 要約： 細胞が収容された培養容器を、培養容器の底面と交差する回転軸の周りに回転させ、培養容器の回転前または回転中に、培養容器の底面の回転中心に液体を噴射し、培養容器の底面の外縁部に前記細胞を偏在させ、前記培養容器の底面の外縁部に偏在する前記細胞を回収する。

WO 2020/170727 A1

[続葉有]

SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

一　国際調査報告（条約第21条(3)）

明　細　書

発明の名称 ： 細胞回収方法及び細胞回収装置

技術分野

[0001] 開示の技術は、細胞回収方法及び細胞回収装置に関する。

背景技術

[0002] 容器内に収容された細胞を回収する技術として、以下のものが知られている。例えば、特開２０１０－１４８４５１号公報には、円筒面状の側壁と、側壁に周方向に間隔をあけて半径方向外方に窪む複数の凹部とを備え、細胞懸濁液を収容して、側壁の中心軸回りに回転させられる容器本体と、容器本体の各凹部の底面近傍に吐出口を配置する洗浄液供給管と、隣接する凹部の間の側壁に対向して吸引口を配置する吸引管とを備える。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0003] 細胞培養において、細胞の品質を均一にするため、細胞は、培養容器の底面に均一に分散されていることが好ましい。一方、培養容器内で培養された細胞を、培養容器から回収する際には、細胞へのダメージを抑制し、細胞の回収率を高める観点から、細胞を短時間で回収することが好ましい。細胞を効率的に回収するためには、培養容器の底面に均一に分散された細胞を、培養容器内の特定の箇所に偏在させることが好ましい。

[0004] 細胞を偏在させる一般的な手段として、遠心機による遠心分離が挙げられる。しかしながら、遠心機による遠心分離には、遠沈管と呼ばれる専用容器が必要となり、細胞の培養に用いられる培養容器を使用することは困難である。また、遠心機による遠心分離においては、一般的に数百Ｇの遠心力が数分間に亘り作用することから、細胞にダメージを与えるおそれがある。また、過大な遠心力により、細胞の凝集体が形成され、凝集体の中心部の細胞への酸素供給が不十分となり、細胞死に至るおそれがある。

[0005] 開示の技術は、細胞へのダメージを抑制しつつ、培養容器から細胞を回収

することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 開示の技術に係る細胞回収方法は、細胞が収容された培養容器を、培養容器の底面と交差する回転軸の周りに回転させ、培養容器の回転前または回転中に、培養容器の底面の回転中心に液体を吐出し、培養容器の底面の外縁部に細胞を偏在させ、培養容器の底面の外縁部に偏在する細胞を回収することを含む。

[0007] 開示の技術に係る細胞回収方法によれば、細胞へのダメージを抑制しつつ、培養容器から細胞を回収することが可能となる。

[0008] 培養容器の底面の外縁部において作用する相対遠心力は、培養容器の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能な最小限の大きさより大きく、且つ細胞の培養容器からの飛び出しが生じない最大限の大きさよりも小さいことが好ましい。これにより、細胞の培養容器からの飛び出しを抑制しつつ、培養容器の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能となる。

[0009] 開示の技術に係る細胞回収方法においては、培養容器を回転軸の周りに回転させながら、培養容器の底面の外縁部に対応する位置に配置された吸引口から細胞を吸引することにより細胞を回収してもよい。これにより、吸引口と培養容器との相対位置の移動を、培養容器の回転によって行うことが可能となる。

[0010] 培養容器が回転する回転軸が、培養容器の底面の中心部に対応する位置に配置されていてもよい。これにより、培養容器の底面の外縁部への移動が促進される。

[0011] 培養容器の底面には、細胞を収容するための複数の凹部が設けられていてもよい。これにより、凹部内に形成される細胞塊のサイズを、凹部間で略均一にすることができる。

[0012] 開示の技術に係る細胞回収装置は、培養容器を、培養容器の底面と交差する回転軸の周りに回転させるための回転駆動部と、培養容器の底面の外縁部に対応する位置に配置された吸引口から培養容器に収容された細胞を吸引す

ることにより回収する回収部と、培養容器の底面の回転中心に液体を吐出する液体吐出部と、を含む。

[0013] 開示の技術に係る細胞回収装置によれば、細胞へのダメージを抑制しつつ、培養容器から細胞を回収することが可能となる。

[0014] 培養容器の底面の外縁部において作用する相対遠心力は、培養容器の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能な最小限の大きさより大きく、且つ細胞の培養容器からの飛び出しが生じない最大限の大きさよりも小さいことが好ましい。これにより、細胞の培養容器からの飛び出しを抑制しつつ、培養容器の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能となる。

[0015] 回転駆動部は、回収部において細胞を回収している間、培養容器を前記回転軸の周りに回転させてもよい。これにより、吸引口と培養容器との相対位置の移動を、培養容器の回転によって行うことが可能となる。

[0016] 培養容器が回転する回転軸が、前記培養容器の底面の中心部に対応する位置に配置されていてもよい。これにより、培養容器の底面の外縁部への移動が促進される。

発明の効果

[0017] 開示の技術によれば、細胞へのダメージを抑制しつつ、培養容器から細胞を回収することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]開示の技術の実施形態に係る細胞回収装置の機能的な構成の一例を示す機能ブロック図である。

[図2]開示の技術の実施形態に係る細胞回収装置の構成の一例を示す図である。

[図3]開示の技術の実施形態に係る細胞回収装置の構成の一例を示す斜視図である

[図4]開示の技術の実施形態に係る制御部が実施する処理の流れの一例を示すフローチャートである。

[図5A]開示の技術の実施形態に係る容器保持部にセットされた時点における

培養容器内の細胞の状態を模式的に示す図である。

[図5B]開示の技術の実施形態に係る回転駆動部によって回転する培養容器内の細胞の状態を模式的に示す図である。

[図5C]開示の技術の実施形態に係る回転駆動部によって回転する培養容器内の細胞の状態を模式的に示す図である。

[図5D]開示の技術の実施形態に係る回収部による細胞の回収を模式的に示す図である。

[図6]開示の技術の実施形態に係る培養容器の構成の一例を示す斜視図である。

[図7A]開示の技術の実施形態に係る培養容器の底板の部分的な平面図である。

[図7B]開示の技術の実施形態に係る培養容器の底板の部分的な斜視図である。

[図8A]図７Ａにおける８－８線に沿った断面図である。

[図8B]図７Ａにおける８－８線に沿って切断した培養容器の底板の斜視図である。

[図9A]開示の技術の実施形態に係る細胞培養方法の一例を示す図である。

[図9B]開示の技術の実施形態に係る細胞培養方法の一例を示す図である。

[図10A]開示の技術の実施形態に係る培養容器が静止状態にあるときの細胞の様子を示す図である。

[図10B]開示の技術の実施形態に係る培養容器が回転状態にあるときの細胞の移動の様子を示す図である。

[図10C]開示の技術の実施形態に係る培養容器が回転状態にあるときの細胞の移動の様子を示す図である。

[図11]比較例に係る細胞回収方法の一例を示す図である。

[図12]開示の技術の他の実施形態に係る細胞回収装置の構成の一例を示す図である。

[図13]開示の技術の他の実施形態に係る制御部が実施する処理の流れの一例

を示すフローチャートである。

[図14]実施例及び比較例に係る方法で回収された細胞含有構造物のサイズの分布を示すヒストグラムである。

[図15]実施例及び比較例に係る方法で回収された細胞含有構造物におけるＡＴＰ産生量を比較した結果を示すグラフである。

[図16A]培養容器の回転前における細胞懸濁液の状態を示す図である。

[図16B]培養容器の回転中における細胞懸濁液の状態を示す図である。

[図16C]培養容器の回転中における細胞懸濁液の状態を示す図である。

[図17]培養容器の回転前における液面の高さと、相対遠心力との関係を示したグラフである。

発明を実施するための形態

[0019] 以下、本発明の実施形態について図面を参照しつつ説明する。尚、各図面において、実質的に同一又は等価な構成要素又は部分には同一の参照符号を付している。

[0020] ［第１の実施形態］

図１は、開示の技術の第１の実施形態に係る細胞回収装置１の機能的な構成の一例を示す機能ブロック図である。図２は、細胞回収装置１の具体的な構成の一例を示す図である。細胞回収装置１は、培養容器１００内に収容された細胞を回収する用途で使用される。回収の対象となる細胞は、単一細胞であってもよいし、複数の細胞が凝集した凝集体であってもよい。また、例えば、人工的に作成された多孔質体と、この多孔質体の表面に付着させた細胞とを含む細胞含有構造物を回収の対象としてもよい。細胞回収装置１は、回転駆動部１０、回収部２０、液体吐出部３０、昇降駆動部４０及び制御部５０を含んで構成されている。

[0021] 回転駆動部１０は、モータ１１及び容器保持部１３を含んで構成されている。容器保持部１３は、細胞が収容された培養容器１００を保持する。モータ１１の回転軸１２は、容器保持部１３に接続されており、モータ１１が駆動されることで、培養容器１００は、容器保持部１３とともに回転する。

[0022] 培養容器１００は、細胞培養に用いられる容器であり、円形の底面１０１と、底面１０１の外縁部を囲む側壁部１０２とを有する。培養容器１００として、例えばディッシュ状の形態を有する市販の培養容器を用いることが可能である。

[0023] 培養容器１００が容器保持部１３に保持された状態において、培養容器１００の底面１０１がモータ１１の回転軸１２に対して垂直となり且つ培養容器１００の底面１０１の中心部に対応する位置にモータ１１の回転軸１２が位置する。すなわち、回転駆動部１０は、図３に示すように、容器保持部１３に保持された培養容器１００を、回転軸１２の周りに回転させる。本実施形態において、回転駆動部１０は、例えば６０ｒｐｍ～１００ｒｐｍ程度の低速回転で培養容器１００を回転させる。例えば、培養容器１００の底面１０１の半径が例えば４５ｍｍである場合、培養容器１００が１００ｒｐｍで回転するとき、底面１０１の外縁部において作用する相対遠心力（RCF：Relative Centrifugal force）は、０．５×ｇとなり、培養容器１００が６０ｒｐｍで回転するとき、底面１０１の外縁部において作用する相対遠心力は０．１８×ｇとなる。ここで、ｇは重力である。なお、相対遠心力ＲＣＦは、下記の（１）式によって求めることができる。（１）式においてｒは回転半径［ｍｍ］であり、Ｎは、回転数［ｒｐｍ］である。

$$RCF = 1118 \times r \times N^2 \times 10^{-9} \quad \cdots (1)$$

なお、培養容器１００の回転速度の上限は、細胞へのダメージ及び遠心力による培養容器１００からの細胞懸濁液の飛び出し等を考慮して適宜定めることが可能である。また、培養容器１００の回転速度の下限は、培養容器１００の底面１０１の外縁部に細胞を偏在させることができるように適宜定めることが可能である。

[0024] 回収部２０は、培養容器１００に収容された細胞（細胞懸濁液）を吸引するノズル２１と、ノズル２１からの細胞（細胞懸濁液）の吸引を制御するコントローラ２２と、を備えている。回収部２０は、市販の電動ピペッタを含んで構成されてもよい。ノズル２１の先端部の吸引口２３は、培養容器１０

０の底面１０１の外縁部に対応する位置に配置されている。回収部２０は、培養容器１００に収容された細胞（細胞懸濁液）を、吸引口２３から吸引することにより回収する。

[0025] 昇降駆動部４０は、固定設置されたベース部４１と、ベース部４１に対して摺動可能に設けられたリンク部４２と、リンク部４２に接続された保持板４３とを含んで構成されている。保持板４３には、回収部２０のコントローラ２２が取り付けられている。リンク部４２が、ベース部４１に対して上下方向に摺動することで、回収部２０が昇降する。回収部２０が、最も高い位置にある場合、ノズル２１の先端部の吸引口２３が、培養容器１００よりも高い位置に配置される。一方、回収部２０が、最も低い位置にある場合、ノズル２１の先端部の吸引口２３が、培養容器１００の底面１０１の近傍に配置される（図２参照）。

[0026] 液体吐出部３０は、液体を吐出するノズル３１と、ノズル３１からの液体の吐出を制御するコントローラ３２と、を含んで構成されている。ノズル３１の先端部の吐出口３３は、回転軸１２に対応する位置に配置されている。すなわち、液体吐出部３０は、培養容器１００の底面１０１の回転中心に液体を吐出する。液体吐出部３０から吐出される液体として、培養容器１００に収容される培地と同じ種類の培地を用いることができる。また、液体吐出部３０から吐出される液体として、培養に使用した培養容器１００内の培地を吸引したものを利用することも可能である。なお、液体吐出部３０から吐出される液体として細胞毒性を有さない、培地以外の液体を用いることも可能である。

[0027] 制御部５０は、例えば、ＭＣＵ（Micro Controller Unit）により構成され、回転駆動部１０、回収部２０、液体吐出部３０及び昇降駆動部４０の動作を統括的に制御する。

[0028] 以下に、細胞回収装置１の動作について説明する。図４は、制御部５０が実施する処理の流れの一例を示すフローチャートである。

[0029] はじめに、細胞を収容した培養容器１００が、容器保持部１３にセットさ

れる。細胞は、培養容器１００内において、接着培養方式または浮遊培養方式により培養され得る。接着培養方式においては、細胞は培養容器１００の底面１０１に接着した状態で培養される。この場合、細胞を培養容器１００の底面１０１から剥離するために、トリプシン等の酵素剤を用いた前処理を適宜行ってもよい。なお、細胞の底面１０１に対する接着力が小さい場合には、上記の前処理を省略することが可能である。

[0030] ここで、図５Ａは、容器保持部１３にセットされた時点における培養容器１００内の細胞の状態を模式的に示す図である。接着培養方式及び浮遊培養方式のいずれの方式においても、図５Ａに示すように、細胞２００は、培養容器１００内において培地２０１中に均一に分散される。培養容器１００が容器保持部１３に保持されることで、培養容器１００の底面１０１の向きは水平に保たれる。

[0031] ステップＳ１において、制御部５０は、回転駆動部１０のモータ１１に制御信号を供給することでモータ１１を駆動させる。これにより、容器保持部１３に保持された培養容器１００が回転する。すなわち、培養容器１００は、底面１０１の向きを水平に保ったまま、底面１０１の中心部を回転中心として回転する。モータ１１の回転速度は、例えば、６０ｒｐｍ～１００ｒｐｍの範囲に制御される。培養容器１００が回転することで、培養容器１００に細胞とともに収容された培地に遠心力が作用し、培養容器１００の底面１０１の中心部から外縁部に向けた液流が発生する。また、遠心力は細胞自体にも作用する。これにより、培養容器１００に収容された細胞は、培養容器１００の底面１０１の外縁部に向けて移動する。

[0032] 培養容器１００が回転することにより作用する遠心力は、回転中心となる底面１０１の中心部において最小となり、培養容器１００の外縁部に向かう液流が殆ど生じない。従って、培養容器１００の回転のみでは、底面１０１の中心部に位置する細胞は、中心部に残留するおそれがある。

[0033] そこで、ステップＳ２において、制御部５０は、液体吐出部３０に制御信号を供給することで液体吐出部３０のノズル３１の先端部の吐出口３３から

液体を吐出させる。これにより、図５Ｂに示すように、培養容器１００の底面１０１の中心部に液体が噴射される。液体吐出部３０が、培養容器１００の底面１０１の中心部に向けて液体を吐出することで、培養容器１００の底面１０１の中心部に位置する細胞の、外縁部への移動を促進させることができ、中心部における細胞の残留が抑制される。なお、培養容器１００の回転を開始する前に液体の吐出を開始してもよい。

[0034] 液体吐出部３０から所定量の液体が吐出された後、ステップＳ３において、制御部５０は、液体吐出部３０からの液体の吐出を停止させる。液体の吐出の停止後においても、培養容器１００の回転が継続される。これにより、図５Ｃに示すように、培養容器１００内の細胞２００は、培養容器１００の底面１０１の外縁部、すなわち、側壁部１０２の近傍に集められる。

[0035] ステップＳ４において、制御部５０は、昇降駆動部４０に制御信号を供給することで回収部２０を降下させる。これにより、図５Ｄに示すように、回収部２０のノズル２１の先端部の吸引口２３が、培養容器１００の底面１０１の外縁部の近傍において培地中に浸漬された状態となる。

[0036] ステップＳ５において、制御部５０は、回収部２０のコントローラ２２に制御信号を供給することで回収部２０を稼働させる。これにより、回収部２０の吸引口２３から細胞（細胞懸濁液）が吸引される。図５Ｄに示すように、回収部２０の吸引口２３は、細胞２００が偏在している培養容器１００の底面１０１の外縁部の近傍に配置される。回収部２０は、培養容器１００の底面１０１の外縁部に偏在している細胞２００を吸引することによりノズル２１内に回収する。回収部２０が細胞２００の吸引を行っている間、培養容器１００の回転が継続される。従って、ノズル２１の吸引口２３と培養容器１００との相対位置の移動が、培養容器１００の回転によって行われる。従って、培養容器１００の底面１０１の外縁部の全周に亘って存在する細胞の略全てを、短時間で回収することが可能となる。

[0037] ステップＳ６において、制御部５０は、回収部２０による細胞の回収を開始してから所定時間が経過したか否かを判定する。上記の所定時間としては

、培養容器１００に収容された細胞の略全てを吸引するのに十分な時間が設定される。なお、ステップＳ６において、所定時間が経過したか否かを判定することに代えて、回収部２０における細胞懸濁液の吸引量が所定量に達したか否かを判定してもよい。制御部５０は、回収部２０による細胞の回収を開始してから所定時間が経過したと判定すると、処理をステップＳ７に移行する。

[0038] ステップＳ７において、制御部５０は、回収部２０の稼働を停止させる。これにより、回収部２０における細胞（細胞懸濁液）の吸引が停止する。ステップＳ８において、制御部５０は、昇降駆動部４０に制御信号を供給することで回収部２０を上昇させる。これにより、回収部２０のノズル２１の先端部の吸引口２３が、培養容器１００よりも高い位置に配置される。ステップＳ９において、制御部５０は、モータ１１の駆動を停止させる。これにより、培養容器１００の回転が停止する。以上の各処理を経ることにより、培養容器１００に収容された細胞の回収が完了する。

[0039] 以上の説明から明らかなように、開示の技術の実施形態に係る細胞回収装置１によれば、細胞が収容された培養容器１００が、回転軸１２の周りに回転する。回転軸１２は、培養容器１００の底面１０１と直交し且つ底面１０１の中心部に対応する位置に配置されている。これにより、培養容器１００内に収容された細胞及び培地に遠心力が作用し、培養容器１００内に均一に分散された細胞を、培養容器１００の底面１０１の外縁部に偏在させることができる。なお、回転軸１２が、培養容器１００の底面１０１と直交しているとは、誤差を許容する範囲内において直交していればよい。また、回転軸１２は、培養容器１００の底面１０１に対して傾斜していてもよい。

[0040] 本実施形態において、培養容器１００の回転速度は、６０ｒｐｍ以上１００ｒｐｍ以下の範囲に制限される。ここで、遠心機を用いた遠心分離における一般的な回転速度が、数千ｒｐｍであることを考慮すると、本実施形態に係る細胞回収装置１による培養容器１００の回転速度は、極めて低速であるといえる。なお、例えば、培養容器１００の底面１０１の半径が例えば４５

ｍｍである場合、培養容器１００が１００ｒｐｍで回転するとき、底面１０１の外縁部において作用する相対遠心力は、０．５×ｇである。このように、培養容器１００を低速で回転させることで、細胞に作用する遠心力を小さくすることができ、遠心力による細胞の凝集を抑制することができる。従って、細胞へのダメージを抑制することができる。

[0041] 一方、培養容器１００の回転速度が低速であっても、培養容器１００内に収容された培地において、培養容器１００の底面１０１の中心部から外縁部に向かう液流を生じさせることができる。これにより、培養容器１００の底面１０１の外縁部に向けて細胞を移動させることが可能となる。培養容器１００が回転することにより作用する遠心力は、回転中心となる培養容器１００の底面１０１の中心部において最小となる。従って、培養容器１００の底面１０１の中心部において、培養容器１００の外縁部に向かう液流が殆ど生じないことから、培養容器１００の回転のみでは、培養容器１００の底面１０１の中心部に位置する細胞は、中心部に残留するおそれがある。本実施形態に係る細胞回収装置１によれば、培養容器１００の回転前または回転中に、液体吐出部３０が、培養容器１００の底面１０１の中心部に液体を吐出する。これにより、培養容器１００の底面１０１の中心部に位置する細胞の、外縁部への移動を促進させることができ、中心部における細胞の残留を抑制することができる。

[0042] また、本実施形態に係る細胞回収装置１によれば、回収部２０において細胞を回収している間、培養容器１００の回転が継続される。これにより、回収部２０のノズル２１の吸引口２３と培養容器１００との相対位置を移動させることができる。すなわち、培養容器１００の底面１０１の外周部に集められた全ての細胞は、培養容器１００の回転により、回収部２０の吸引口２３の近傍を通過する。従って、培養容器１００の底面の外縁部の全周に亘って存在する細胞の略全てを、短時間で回収することが可能となる。このように、本実施形態に係る細胞回収装置１によれば、培養容器１００の回転により、培養容器１００の底面１０１の外縁部に細胞を偏在させる効果と、吸引

口２３と培養容器１００との相対位置を移動させる効果とを得ることができる。

[0043] また、本実施形態に係る細胞回収装置１によれば、専用の容器を必要とせず、細胞の培養に使用した培養容器を使用することが可能であり、市販の培養容器を使用することも可能である。また、培養容器１００として、例えば、以下の構成を有するものを使用することが可能である。

[0044] ここで、培養容器１００の回転に伴って作用する相対遠心力ＲＣＦの好ましい範囲について、図１６Ａ～図１６Ｃ及び図１７を参照しつつ説明する。なお、図１６Ａ～１６Ｃ及び図１７において、ｈは培養容器１００に収容された培地の液面の高さである。h_0は、培養容器１００の回転前（すなわち静止中）における培地の液面の高さである。h_{max}は、培養容器１００の側壁部１０２の高さである。h_{min}は、細胞培養に必要な最小限の培地の液面の高さである。RCF_{max}は、培養容器１００から、細胞及び培地を含む細胞懸濁液が飛び出さない相対遠心力の最大限の大きさである。RCF_{min}は、培養容器１００の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能な相対遠心力の最小限の大きさである。

[0045] 図１６Ａに示すように、培養容器１００の回転前（静止中）における培地の液面の高さｈはh_0である。このとき、$h_{min}<h_0<h_{max}$を満たすように、h_0が定められる。図１６Ｂに示すように、培養容器１００が回転すると、培地に遠心力が作用し、培養容器１００の底面の中心部から外縁部に向けた液流が発生する。また、遠心力は細胞自体にも作用する。これにより、培養容器１００に収容された細胞は、培養容器１００の底面１０１の外縁部に向けて移動する。このときの培養容器１００の外縁部における液面の高さｈについて、$h_0<h<h_{max}$を満たすように、相対遠心力ＲＣＦの大きさが定められる。図１６Ｃ示すように、相対遠心力ＲＣＦの大きさがRCF_{max}に達すると、培養容器１００の外縁部における液面の高さｈは、h_{max}となる。相対遠心力ＲＣＦの大きさがRCF_{max}を超えて大きくなると、培地及び細胞を含む細胞懸濁液が培養容器１００から飛び出してしまうことになる。

[0046] 図１７は、培養容器１００の回転前における液面の高さh_0と、相対遠心力ＲＣＦとの関係を示したグラフである。図１７に示すグラフにおいて、実線は、培地及び細胞を含む細胞懸濁液が培養容器１００から飛び出すか、飛び出さないかの境界線である。

[0047] 本実施形態に係る細胞回収方法において、培養容器１００の回転前における液面の高さh_0がh_{min}よりも低くなることはなく、またh_{max}よりも高くなることはないので、図１７における領域１及び領域２は、本実施形態に係る細胞回収方法において使用しない領域である。また、本実施形態に係る細胞回収方法においては、培養容器１００の底面の外縁部への細胞の偏在を可能とする必要があることから、図１７における領域３及び領域６は、本実施形態に係る細胞回収方法において使用しない領域である。また、本実施形態に係る細胞回収方法においては、細胞及び培地を含む細胞懸濁液の培養容器１００からの飛び出しを回避する観点から、図１７における領域４及び領域５は、使用しない領域である。本実施形態に係る細胞回収方法においては、培養容器１００の外縁部において作用する相対遠心力が、培養容器１００の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能な最小限の大きさ（RCF_{min}）より大きく、且つ細胞懸濁液の培養容器１００からの飛び出しが生じない最大限の大きさ（RCF_{max}）よりも小さい領域７が使用される。

[0048] 培養容器１００の回転前における液面の高さh_0が相対的に低い場合（すなわち、液量が相対的に少ない場合）、細胞及び培地を含む細胞懸濁液が培養容器１００から飛び出さない最大限の相対遠心力RCF_{max}の大きさが相対的に大きくなる。一方、培養容器１００の回転前における液面の高さh_0が相対的に高い場合（すなわち、液量が相対的に多い場合）、細胞及び培地を含む細胞懸濁液が培養容器１００から飛び出さない最大限の相対遠心力RCF_{max}の大きさが相対的に小さくなる。すなわち、この場合、相対的に弱い相対遠心力に対して、細胞懸濁液の培養容器１００からの飛び出しが発生する。しかしながら、この場合でも、相対遠心力がRCF_{min}を超えていれば、培養容器１００の底面の外縁部に細胞を偏在させることが可能であり、本実施形態

に係る細胞回収方法を有効に実施することが可能である。

[0049] 図６は、細胞回収装置１に用いることができる、培養容器１００Ａの全体の構成の一例を示す斜視図である。培養容器１００Ａは、板状部材からなる底板１０３と、底板１０３の外縁を囲み、底板１０３の主面と交差する方向に壁面を形成する側壁部１０２とを含んで構成されている。底板１０３の主面の形状は円形とされており、培養容器１００Ａの外形は円柱状である。すなわち、培養容器１００Ａはシャーレ（ペトリ皿）等の容器の形態を有している。

[0050] 培養容器１００Ａは、培養中の細胞の状態を観察できるように、全体が可視光に対して透過性を有する材料で構成されていることが好ましい。培養容器１００Ａを例えば、射出成形によって製造する場合、培養容器１００Ａの材料として、ポリスチレン等の熱可塑性樹脂を好適に用いることができる。

[0051] 図７Ａ及び図７Ｂは、それぞれ、底板１０３の表面の構造を拡大して示す、底板１０３の部分的な平面図及び斜視図である。図８Ａは、図７Ａにおける８－８線に沿った断面図であり、図８Ｂは、図７Ａにおける８－８線に沿って切断した底板１０３の斜視図である。

[0052] 底板１０３の表面には、培養容器１００Ａを用いて培養される細胞を収容し、培養するための複数の凹部６１が設けられている。凹部６１の各々の形状は半球状とされている。図７Ａ及び図７Ｂに示すように、複数の凹部６１は、底板１０３の表面（Ｘ－Ｙ平面）に六方最密配列の形態で配列されている。すなわち、複数の凹部６１の各々は、６つの他の凹部６１に隣接している。互いに隣接する各２つの凹部６１は、当該２つの凹部６１の間に設けられた隔壁６２によって互いに隔てられている。すなわち、底板１０３は、互いに隣接する各２つの凹部６１を互いに隔てる複数の隔壁６２を有する。

[0053] 図８Ａ及び図８Ｂに示すように、本実施形態において、隔壁６２の上面（凹部６１の開口側の面）が、凸状の非平坦面となっている。ここで、凹部６１の底部と隔壁６２の頂部との間の、高さ方向（Ｚ方向）における距離をＬとし、凹部６１の開口径をＤとしたとき、下記の（２）式を満たすことが好

ましい。なお、開口径Ｄは、隔壁６２の頂部間の距離に相当し、距離Ｌは、凹部６１の深さに相当する。

２Ｄ≧３Ｌ　・・・（２）

[0054] 開口径Ｄ及び距離Ｌは、培養容器１００を用いて培養される細胞の凝集体である細胞塊のサイズに応じて定められる。開口径Ｄは、一例として、１．０ｍｍ程度であってもよく、距離Ｌは、例えば０．５ｍｍ程度であってもよい。開口径Ｄと距離Ｌとが（１）式を満たすことで、凹部６１内に収容され、培養される細胞が、凹部６１内で適度に動くことができ、好ましい培養状態を得ることができる。

[0055] 図７Ａ、図７Ｂに示すように、底板１０３の表面には、複数の隔壁６２が交差する各交差部に、隔壁６２の頂部の高さよりも高い頂部を有する突起部６３が設けられている。突起部６３の形状は特に限定されないが、例えば、複数の凹部６１が、六方最密配列の形態で配列されている場合には、突起部６３の形状は、四面体（三角錐）状または、突起部６３の頂部に対応する四面体の頂点を切り欠いた形状であってもよい。この場合、切り欠かれた突起部６３の頂部の上面は、平坦であってもよく、湾曲していてもよい。

[0056] 突起部６３の形状を四面体状または四面体の頂点を切り欠いた形状とした場合、突起部６３の各々は、突起部６３の中央部（頂部）から裾部の間で、隔壁６２に連なる傾斜した３つの傾斜面を有することになる。これら３つの傾斜面は、それぞれ、当該突起部６３に隣接する３つの凹部６１に向けて傾斜していることが好ましい。なお、突起部６３の形状は、例えば円錐形状、円錐の頂点を切り欠いた円錐台形状、円柱形状または角柱形状であってもよい。

[0057] 以下に、培養容器１００Ａを用いた細胞培養方法の一例について説明する。図９Ａ及び図９Ｂは、開示の技術の実施形態に係る細胞培養方法の一例を示す図である。

[0058] 初めに、培養容器１００Ａの底板１０３及び側壁部１０２によって囲まれた空間内に適量の培地２０１を注ぐ。続いて、図９Ａに示すように、上記の

空間内に注がれた培地２０１中に、細胞２００を含む細胞懸濁液を注入する。細胞２００は、単一細胞及び複数の単一細胞の凝集体である細胞塊を含み得る。また、細胞２００は、人工的に作成された多孔質体と、この多孔質体の表面に付着した細胞とを含む細胞含有構造物であってもよい。細胞懸濁液は、細胞２００が培地２０１中で略均一に分散するように注入される。なお、本実施形態に係る細胞培養方法を用いて培養される細胞の種類は、特に限定されるものではなく、例えば動物細胞及びヒト細胞であってもよい。細胞２００は、自重によって培養容器１００Ａの底板１０３に向けて培地２０１中を落下して、図９Ｂに示すように、凹部６１内に収容され、凹部６１内で培養される。

[0059] 凹部６１内に収容された細胞２００同士が融合することで細胞塊が形成される。また、凹部６１内に収容された細胞２００が、細胞分裂を繰り返すことで、細胞塊のサイズが大きくなる。培養期間中、所定の培養プロトコルに従って、例えば数日おきに培地交換処理等の必要な処理が施される。凹部６１内に形成された細胞塊のサイズが、所望のサイズにまで成長した段階で培養を終了させる。各凹部６１は、隔壁６２によって、隣接する他の凹部６１と分離されているので、各凹部６１内に形成される細胞塊のサイズを、凹部６１間で略均一にすることができる。

[0060] 所望のサイズにまで成長した細胞塊は、回収され、保存される。細胞塊の回収は、細胞回収装置１を用いて行うことが可能である。すなわち、培養容器１００Ａが、細胞回収装置１の容器保持部１３にセットされた後、細胞回収装置１が、図４のフローチャートに示される各処理を実施することで、培養容器１００Ａに収容された細胞塊が、細胞回収装置１に回収される。

[0061] 図１０Ａは、培養容器１００Ａが静止状態にある場合の、培養容器１００Ａに収容された細胞２００の様子を示す図である。この場合、細胞２００は、凹部６１内において静止状態を維持する。モータ１１が駆動され、培養容器１００が回転を開始すると、培地に遠心力が作用する。これにより、図１０Ｂにおいて、矢印によって示されるように、培地の表層部においては、培

養容器１００Ａの外縁部に向かう液流が発生し、培地の下層部においては、培養容器１００Ａの凹部６１の表面に沿った液流が発生する。この液流により、細胞２００は、凹部６１の表面に沿って移動する。細胞２００は、細胞２００に作用する微小な遠心力及び液流により、図１０Ｃに示すように、凹部６１から出ることが可能となり、培養容器１００Ａの外縁部へ移動することが可能である。培養容器１００Ａの回転を継続させることで、細胞２００が培養容器１００Ａの外縁部に集められ、回収部２０のノズル２１の吸引口２３から吸引されることにより回収される。

[0062] このように、開示の技術の実施形態に係る細胞回収装置１によれば、培養容器の底面に細胞の移動の障壁となる凹凸構造が形成されている場合でも、細胞へのダメージを抑制しつつ培養容器から細胞を回収することが可能である。

[0063] ［第２の実施形態］

図１２は、開示の技術の第２の実施形態に係る細胞回収装置１Ａの構成の一例を示す図である。細胞回収装置１Ａは、吐出・回収部７０を備えている。吐出・回収部７０は、第１の実施形態に係る細胞回収装置１における回収部２０の機能と、液体吐出部３０の機能とを兼ね備えている。

[0064] 吐出・回収部７０は、シリンジ７１、無菌フィルタ７２、配管７３、シリンジ押し引きユニット７４、昇降ユニット７５、首振りユニット７６及びノズル７７を含んで構成されている。シリンジ７１は、シリンジ押し引きユニット７４に保持されている。シリンジ押し引きユニット７４が上昇することで、シリンジ７１のプランジャが押し込まれる方向に移動し、シリンジ７１内に収容された気体が、無菌フィルタ７２、配管７３を介して、ノズル７７内を加圧することでノズル７７に収容された液体を吐出・吸引口７８から吐出する。一方、シリンジ押し引きユニット７４が降下することで、シリンジ７１のプランジャが引き出される方向に移動し、ノズル７７の吐出・吸引口７８から吸引された液体が、ノズル７７に収容される。首振りユニット７６は、ノズル７７と配管７３との接続部の近傍に配置された回転軸の周りに回

転することで、ノズル７７の先端部を培養容器１００の半径方向に移動させる。昇降ユニット７５は、ノズル７７を昇降させる。

[0065] 以下に、細胞回収装置１Ａの動作について説明する。図１３は、制御部５０が実施する処理の流れの一例を示すフローチャートである。

[0066] ステップＳ１１において制御部５０は、首振りユニット７６を駆動して、ノズル７７の先端を培養容器１００の底面１０１の中心に移動させる。

[0067] ステップＳ１２において制御部５０は、シリンジ押し引きユニット７４を降下させる。これにより、シリンジ７１のプランジャが引き出される方向に移動し、ノズル７７の吐出・吸引口７８から培養容器１００内の細胞懸濁液が吸引され、ノズル７７に収容される。

[0068] ステップＳ１３において制御部５０は、モータ１１を駆動させる。これにより、容器保持部１３に保持された培養容器１００が回転し、培養容器１００に収容された細胞は、培養容器１００の底面１０１の外縁部に向けて移動する。

[0069] ステップＳ１４において、制御部５０は、シリンジ押し引きユニット７４を上昇させる。これにより、シリンジ７１のプランジャが押し込まれる方向に移動し、ノズル７７内に収容された細胞懸濁液が、ノズル７７の吐出・吸引口７８から吐出される。これにより、培養容器１００の底面１０１の中心部に位置する細胞の、外縁部への移動を促進させることができ、中心部における細胞の残留が抑制される。

[0070] ステップＳ１５において、制御部５０は、シリンジ押し引きユニット７４を停止させる。これにより、吐出・吸引口７８からの細胞懸濁液の吐出が停止する。

[0071] ステップＳ１６において、制御部５０は、首振りユニット７６を駆動して、ノズル７７の先端を、培養容器１００の底面１０１の外縁部に移動させる。

[0072] ステップＳ１７において、制御部５０は、シリンジ押し引きユニット７４を降下させる。これにより、シリンジ７１のプランジャが引き出される方向

に移動し、ノズル７７の吐出・吸引口７８から培養容器１００の底面１０１の外縁部に偏在している細胞を含む細胞懸濁液が吸引され、ノズル７７内に収容される。吐出・回収部７０が細胞懸濁液の吸引を行っている間、培養容器１００の回転が継続される。従って、ノズル７７の吐出・吸引口７８と培養容器１００との相対位置の移動が、培養容器１００の回転によって行われる。従って、培養容器１００の底面１０１の外縁部の全周に亘って存在する細胞の略全てを、短時間で回収することが可能となる。

[0073] ステップＳ１８において、制御部５０は、指定量の細胞懸濁液の吸引が完了したか否かを判定する。指定量の細胞懸濁液の吸引が完了すると、ステップＳ１９において、制御部５０は、シリンジ押し引きユニット７４を停止させる。これにより、吐出・吸引口７８からの細胞懸濁液の吸引が停止する。

[0074] ステップＳ２０において、制御部５０は、昇降ユニット７５を上昇させる。これにより、ノズル２１が上昇し、ノズル２１の吐出・吸引口７８が、培養容器１００よりも高い位置に配置される。

[0075] ステップＳ２１において、制御部５０は、モータ１１の駆動を停止させる。これにより、培養容器１００の回転が停止する。

[0076] 以上のように、吐出・回収部７０は、第１の実施形態に係る細胞回収装置１における回収部２０の機能と、液体吐出部３０の機能とを兼ね備えているので、細胞回収装置１Ａの構成を簡略化することができる。

[0077] ［実施例］

以下に、細胞回収装置１を用いて、人工的に作成された多孔質体と細胞とを組み合わせた細胞含有構造物の回収を行った結果について説明する。比較例として、培養容器を回転させず、図１１に示すように、培養容器１００を傾けた状態で、複数回に亘り培養容器１００の底面１０１に液体を噴射することにより、傾けた培養容器１００の最下部に細胞構造物を集め、これらを吸引によって回収した結果についても説明する。

[0078] 実施例及び比較例のいずれの場合においても、培養容器として、図６－図８に示したような底面に複数の凹部が設けられた構造の培養容器を用いた。

培養容器の底面は直径９０ｍｍの円形であった。開示の技術の実施例に係る細胞回収方法においては、培養容器の回転速度を６０ｒｐｍ～１００ｒｐｍの範囲に調節した。

[0079] 図１４は、実施例及び比較例に係る方法で回収された細胞含有構造物のサイズの分布を示すヒストグラムである。なお、回収前における細胞含有構造物のサイズの分布は、実施例及び比較例は、略同一であった。細胞含有構造物のサイズの測定には、SCREENホールディングス社製 Cell3iMager neo CC-3000を用いた。比較例に係る細胞回収方法を適用した場合、サイズが比較的小さい（２２０μｍ以下）細胞含有構造物の含有率が、実施例に係る細胞回収方法を適用した場合と比較して大きくなった。これは、比較例に係る細胞回収方法によれば、培養容器の底面に液体を噴射する処理が複数回に亘り行われることにより、細胞含有構造物が破砕されたためであると考えられる。換言すれば、開示の技術の実施例に係る細胞回収方法によれば、比較例に係る細胞回収方法と比較して、細胞含有構造物が破砕されにくく、細胞へのダメージが小さいものと考えられる。

[0080] 図１５は、実施例及び比較例に係る方法で回収された細胞含有構造物におけるＡＴＰ（adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸）産生量を比較した結果を示すグラフである。なお、ＡＴＰ産生量の測定には、BioTek社製 Cytation 5（Cytationは登録商標） CYT5MPVを用いた。図１５において、比較例に係る細胞含有構造物におけるＡＴＰ産生量を１００％としている。図１５に示すように、実施例に係る細胞含有構造物の方が、ＡＴＰ産生量が多くなった。すなわち、実施例に係る細胞回収方法によれば、比較例に係る細胞回収方法と比較して細胞へのダメージが小さいと考えられる。

[0081] なお、２０１９年２月１８日に出願された日本国特許出願２０１９－０２６９６０の開示は、その全体が参照により本明細書に取り込まれる。また、本明細書に記載された全ての文献、特許出願および技術規格は、個々の文献、特許出願、および技術規格が参照により取り込まれることが具体的かつ個々に記された場合と同程度に、本明細書中に参照により取り込まれる。

請求の範囲

[請求項1] 細胞が収容された培養容器を、前記培養容器の底面と交差する回転軸の周りに回転させ、

前記培養容器の回転前または回転中に、前記培養容器の底面の回転中心に液体を吐出し、

前記培養容器の底面の外縁部に前記細胞を偏在させ、

前記培養容器の底面の外縁部に偏在する前記細胞を回収する

細胞回収方法。

[請求項2] 前記培養容器の外縁部において作用する相対遠心力が前記培養容器の底面の外縁部に前記細胞を偏在させることが可能な最小限の大きさより大きく、且つ前記細胞の前記培養容器からの飛び出しが生じない最大限の大きさよりも小さい

請求項１に記載の細胞回収方法。

[請求項3] 前記培養容器を前記回転軸の周りに回転させながら、前記培養容器の底面の外縁部に対応する位置に配置された吸引口から前記細胞を吸引することにより前記細胞を回収する

請求項１または請求項２に記載の細胞回収方法。

[請求項4] 前記回転軸が、前記培養容器の底面の中心部に対応する位置に配置されている

請求項１から請求項３のいずれか１項に記載の細胞回収方法。

[請求項5] 前記培養容器の底面には、細胞を収容するための複数の凹部が設けられている

請求項１から請求項４のいずれか１項に記載の細胞回収方法。

[請求項6] 培養容器を、前記培養容器の底面と交差する回転軸の周りに回転させるための回転駆動部と、

前記培養容器の底面の外縁部に対応する位置に配置された吸引口から前記培養容器に収容された細胞を吸引することにより回収する回収部と、

前記培養容器の底面の回転中心に液体を吐出する液体吐出部と、

を含む細胞回収装置。

[請求項7] 前記培養容器の底面の外縁部において作用する相対遠心力が前記培養容器の底面の外縁部に前記細胞を偏在させることが可能な最小限の大きさより大きく、且つ前記細胞の前記培養容器からの飛び出しが生じない最大限の大きさよりも小さい

請求項６に記載の細胞回収装置。

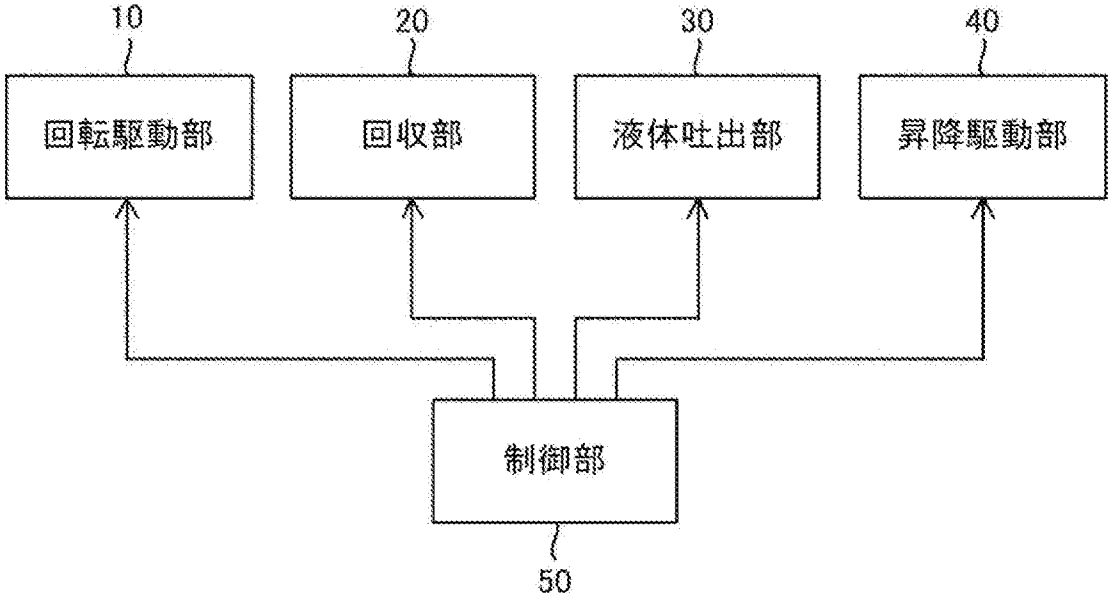
[請求項8] 前記回転駆動部は、前記回収部において前記細胞を回収している間、前記培養容器を前記回転軸の周りに回転させる

請求項６または請求項７に記載の細胞回収装置。

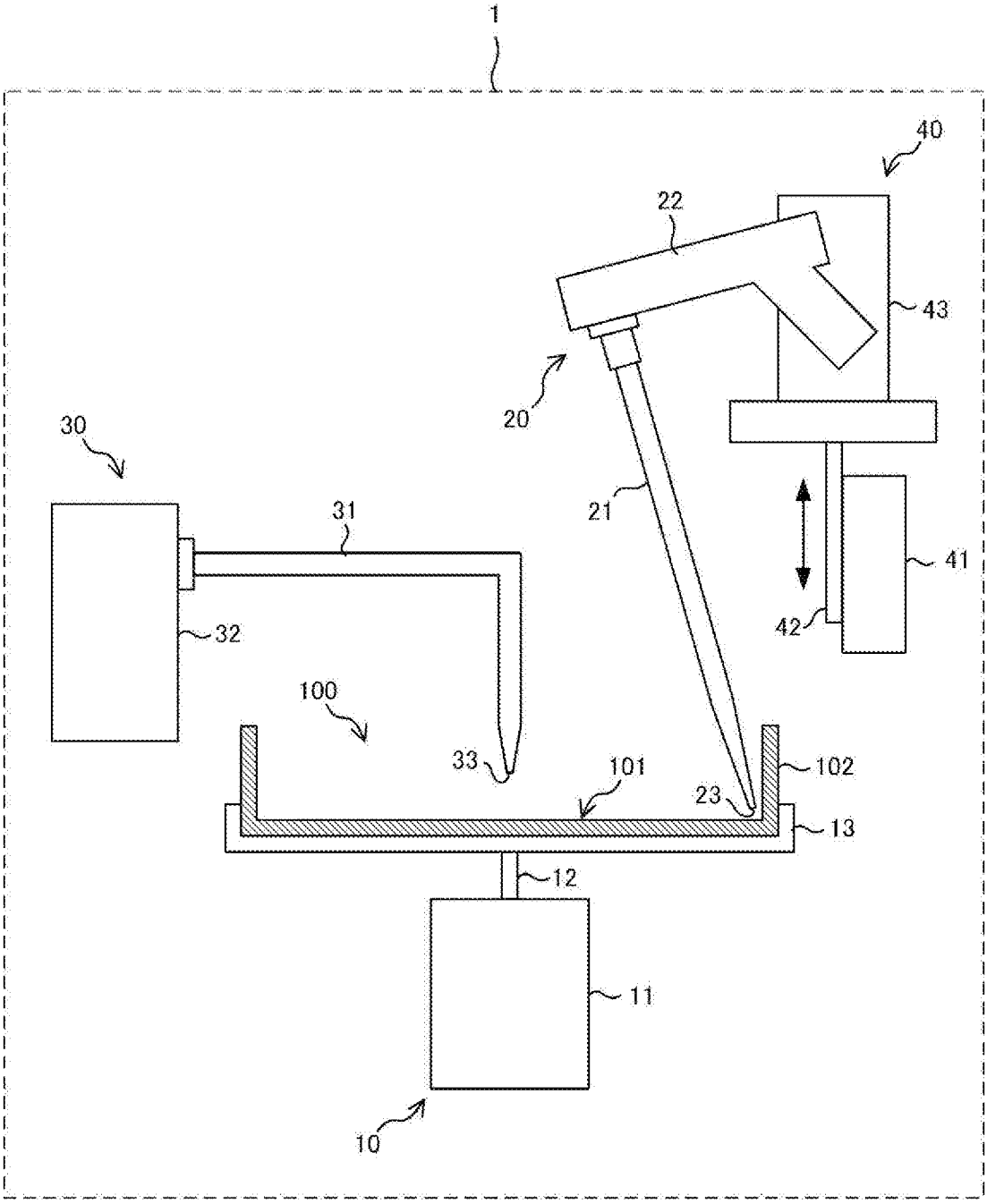
[請求項9] 前記回転軸が、前記培養容器の底面の中心部に対応する位置に配置されている

請求項６から請求項８のいずれか１項に記載の細胞回収装置。

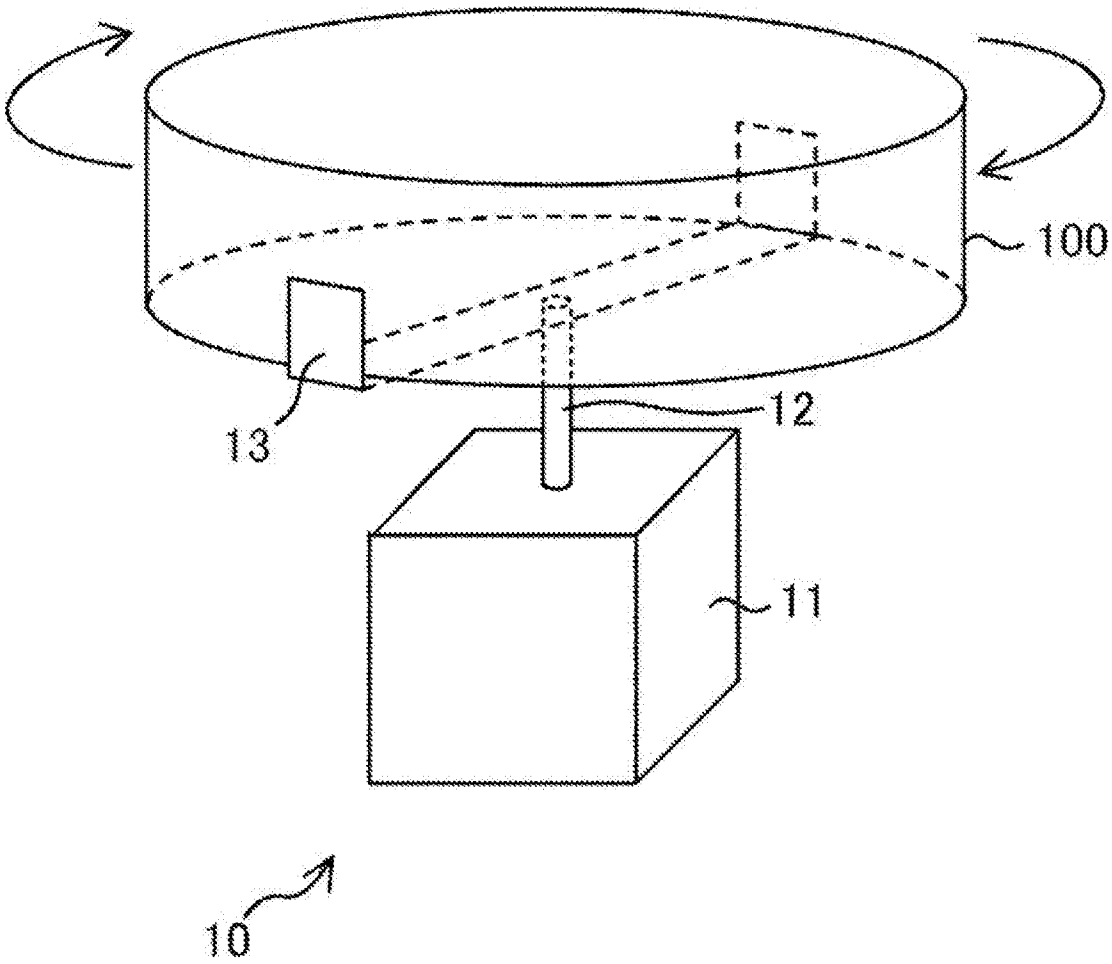
[図1]



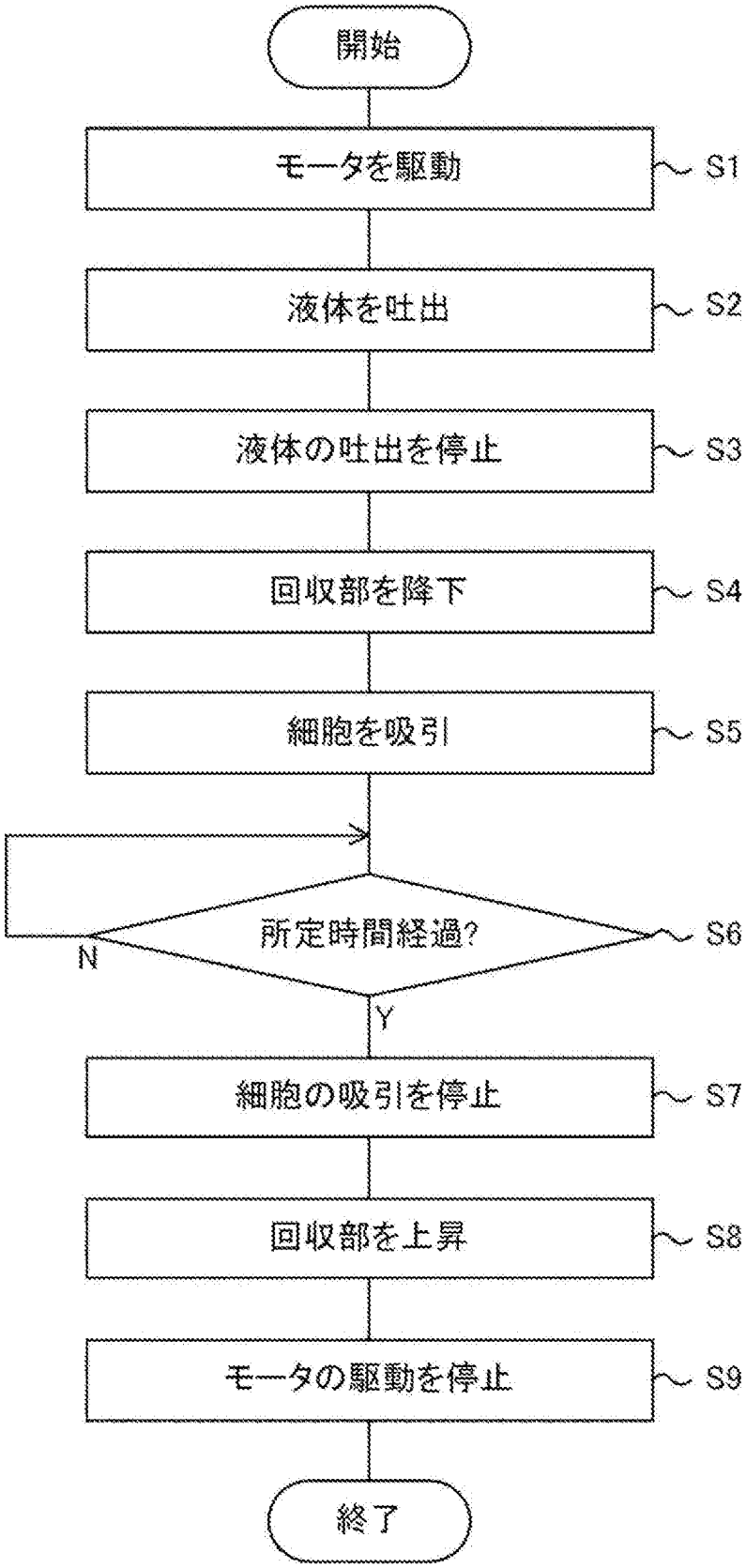
[図2]



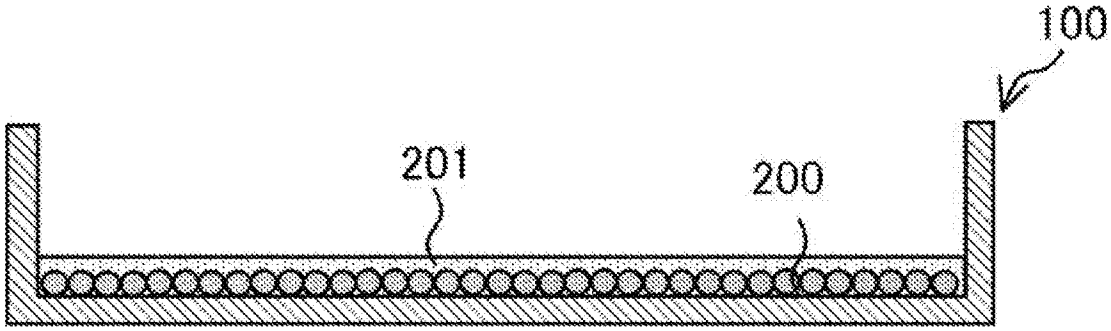
[図3]



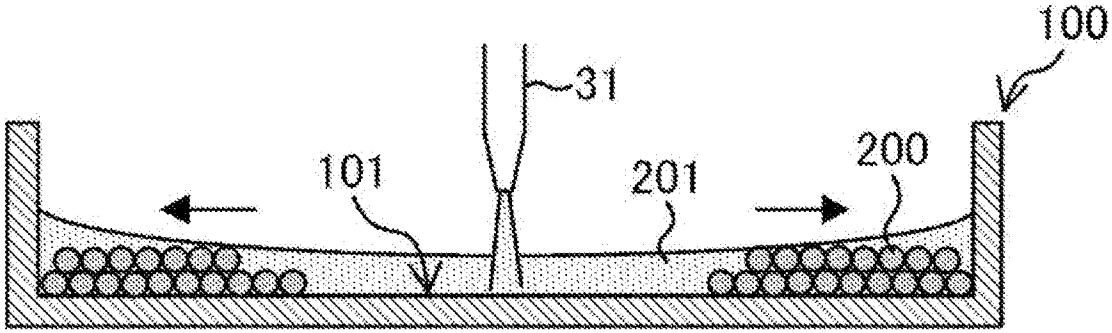
[図4]


開始
モータを駆動
S1
液体を吐出
S2
液体の吐出を停止
S3
回収部を降下
S4
細胞を吸引
S5
所定時間経過?
S6
N
Y
細胞の吸引を停止
S7
回収部を上昇
S8
モータの駆動を停止
S9
終了

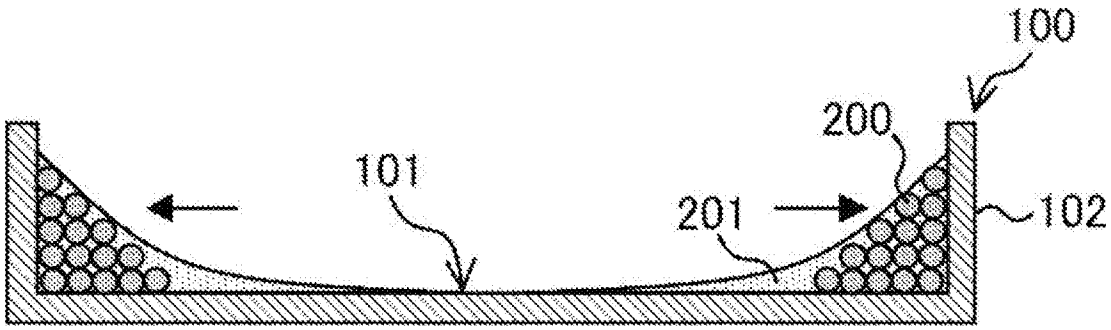
[図5A]



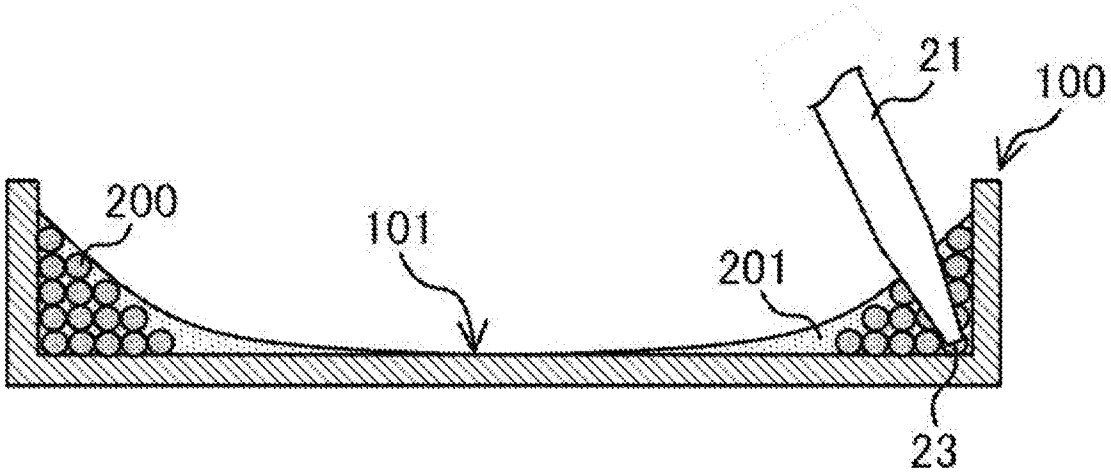
[図5B]



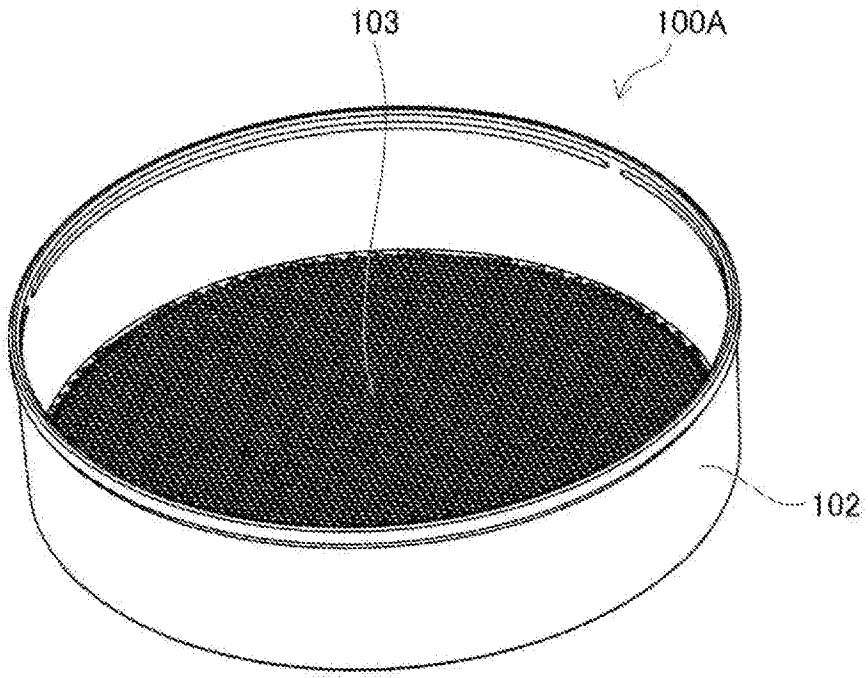
[図5C]



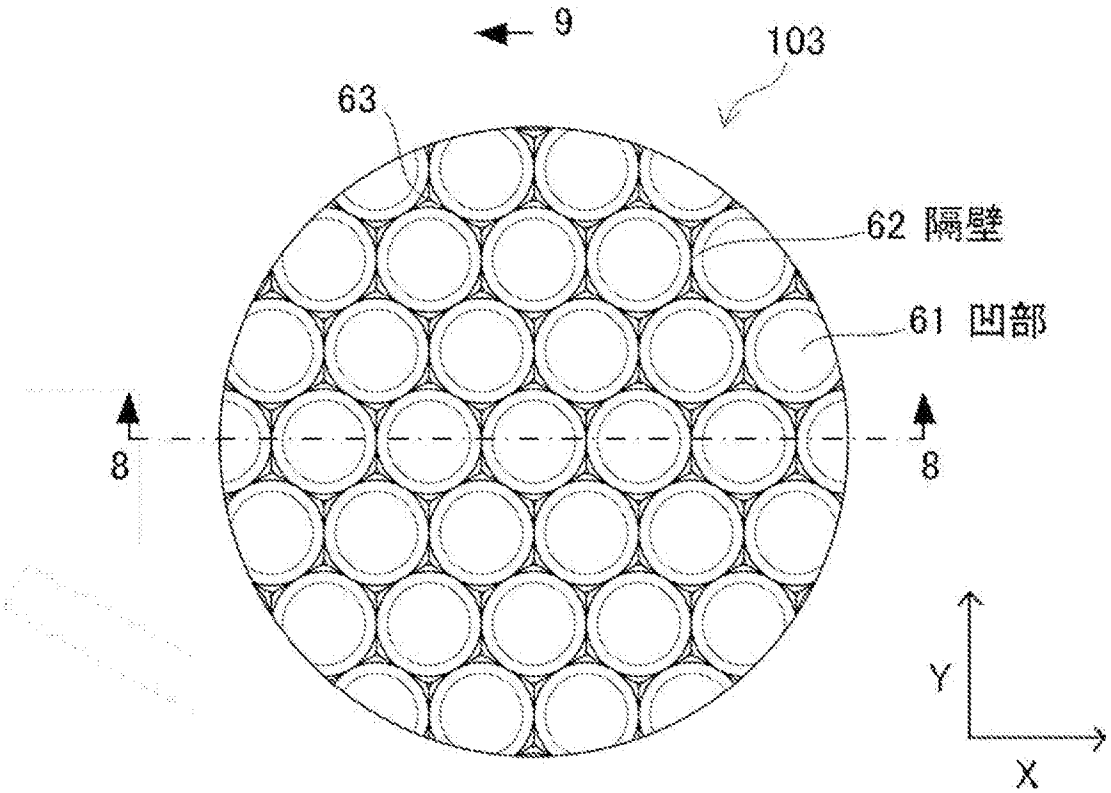
[図5D]



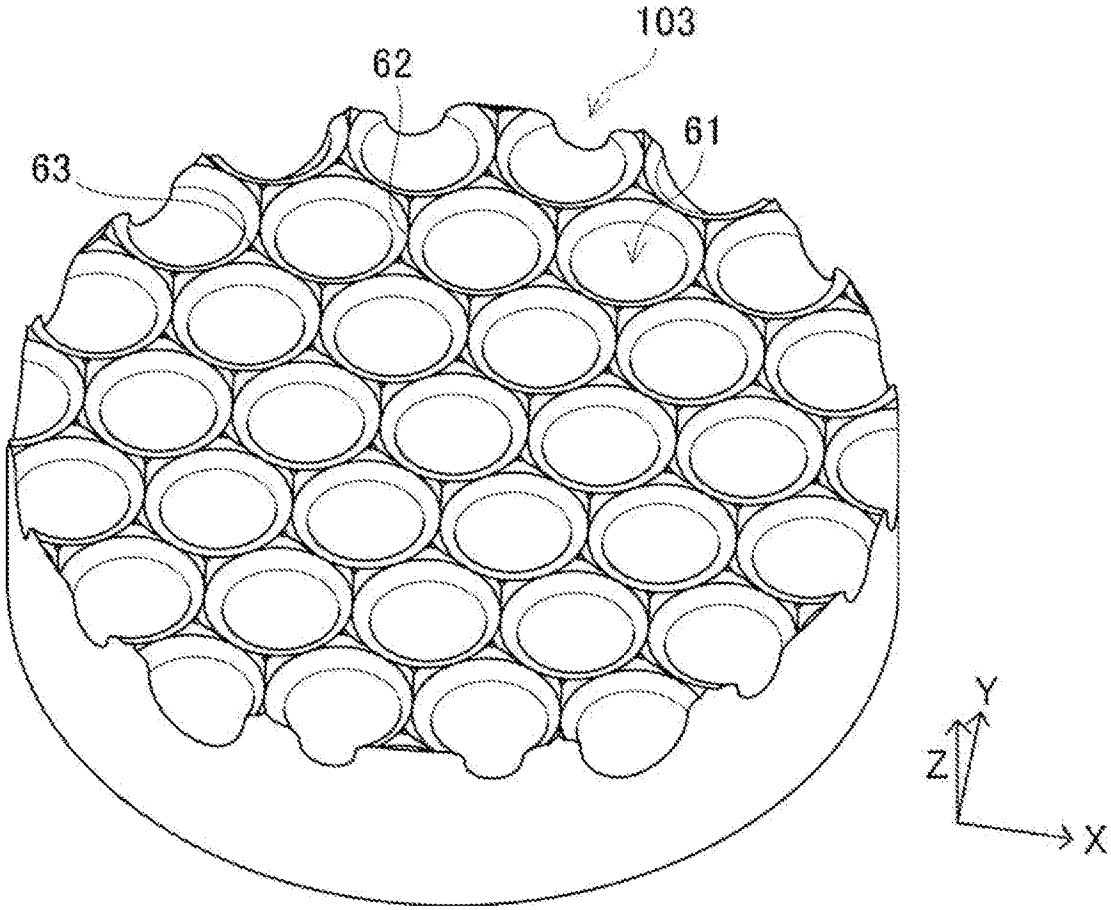
[図6]



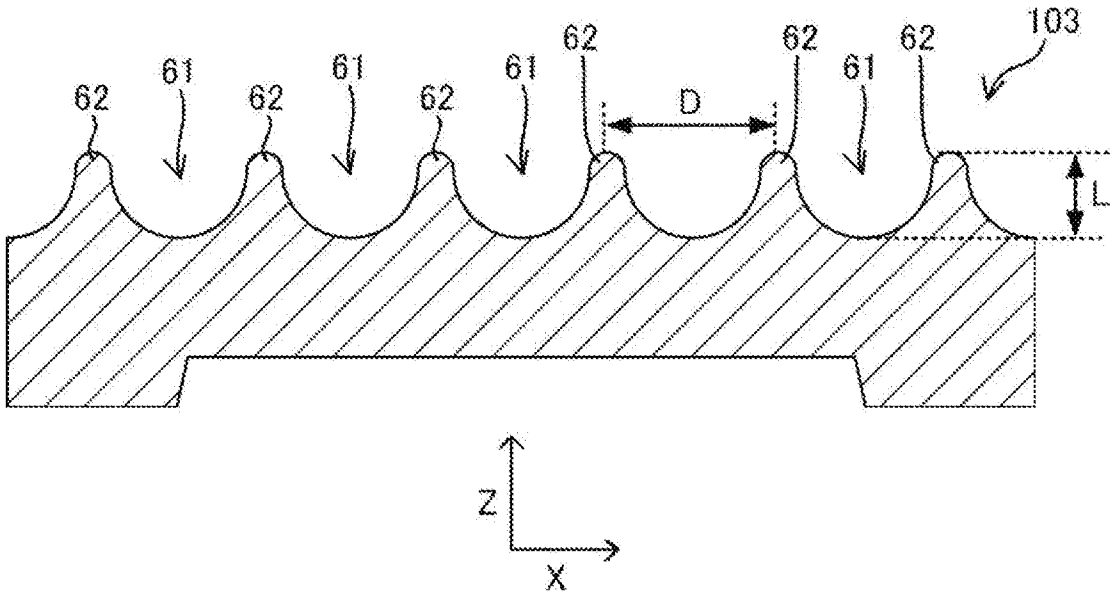
[図7A]



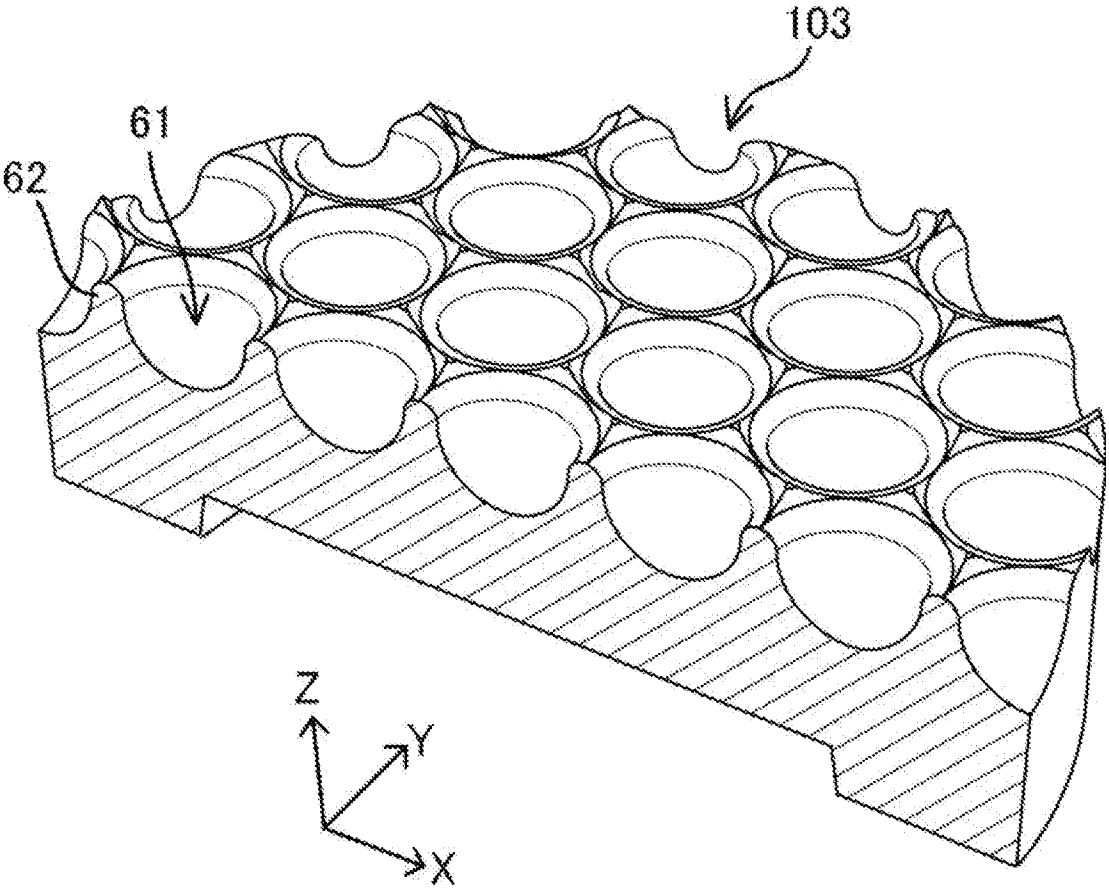
[図7B]



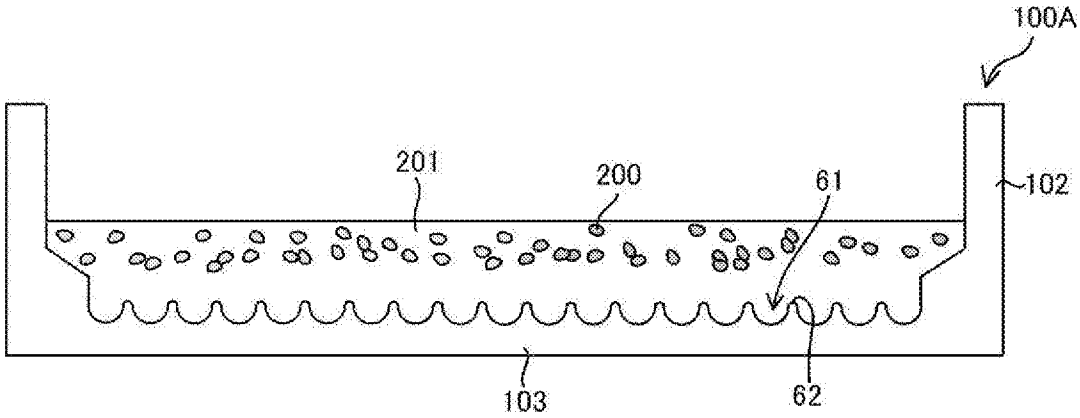
[図8A]



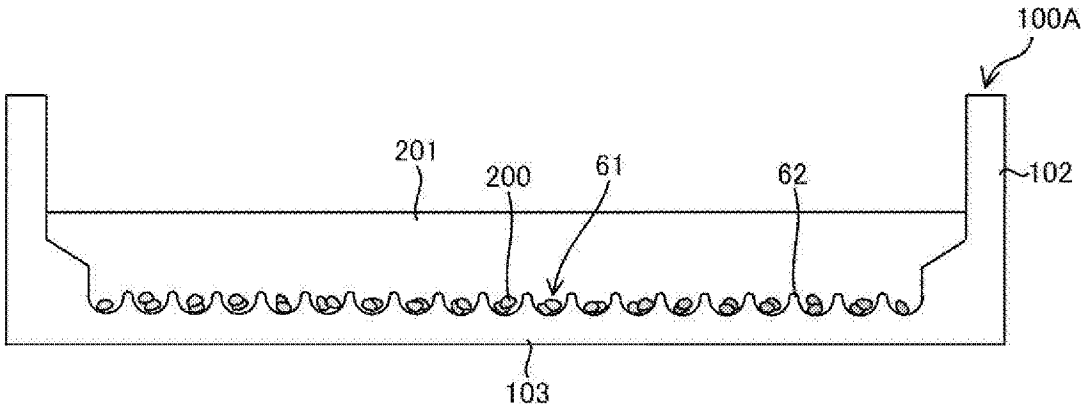
[図8B]


103
61
62
Z
Y
X

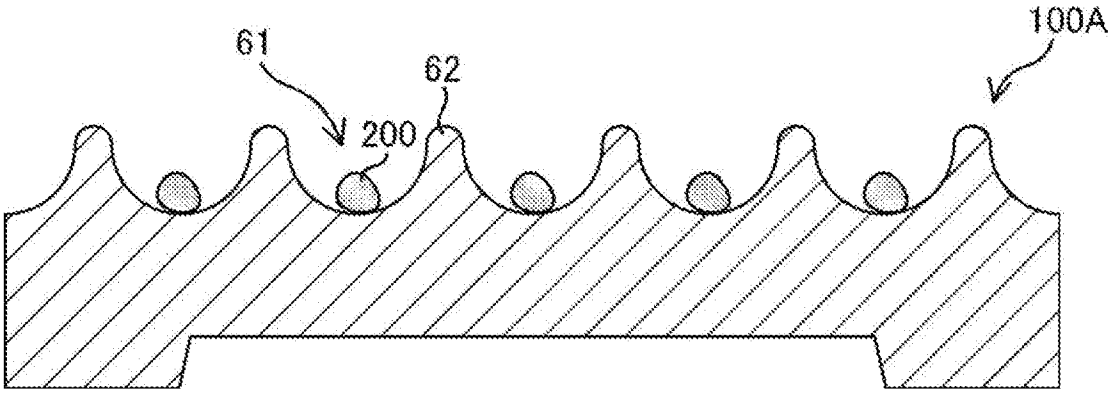
[図9A]


100A
201
200
61
102
103
62

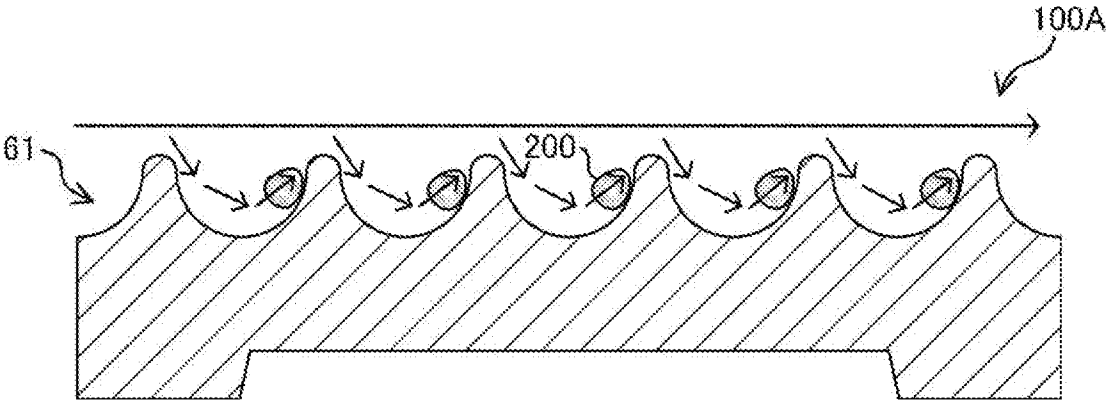
[図9B]


100A
201
200
61
62
102
103

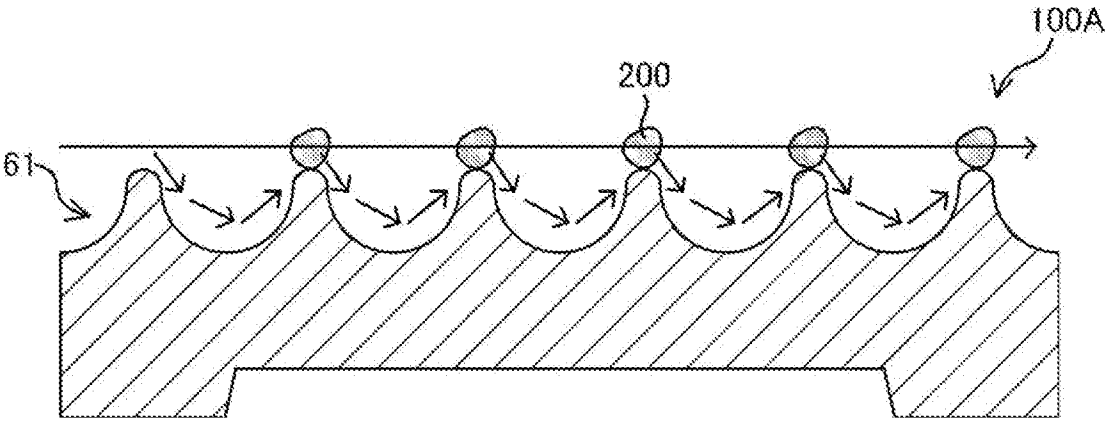
[図10A]



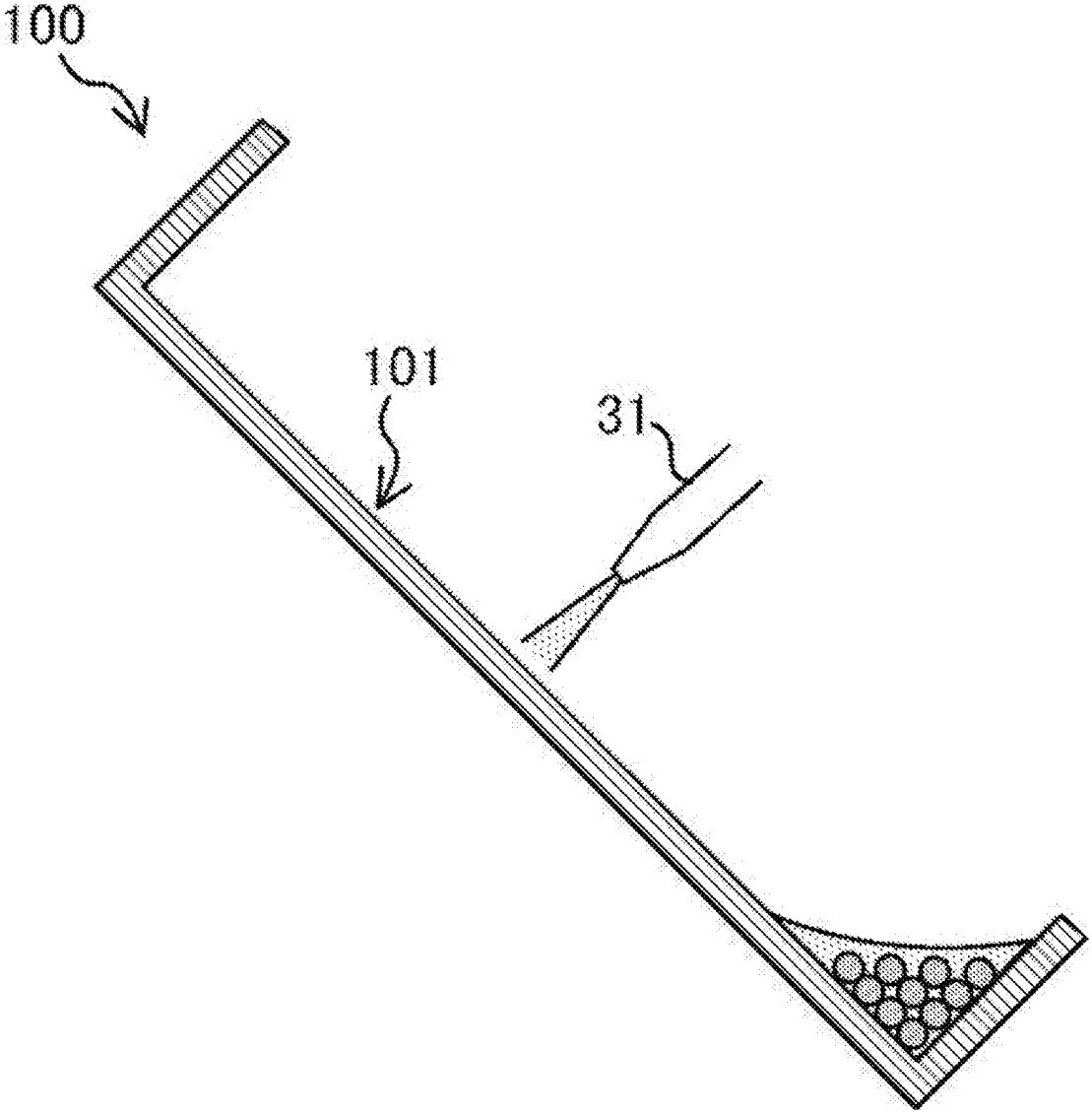
[図10B]



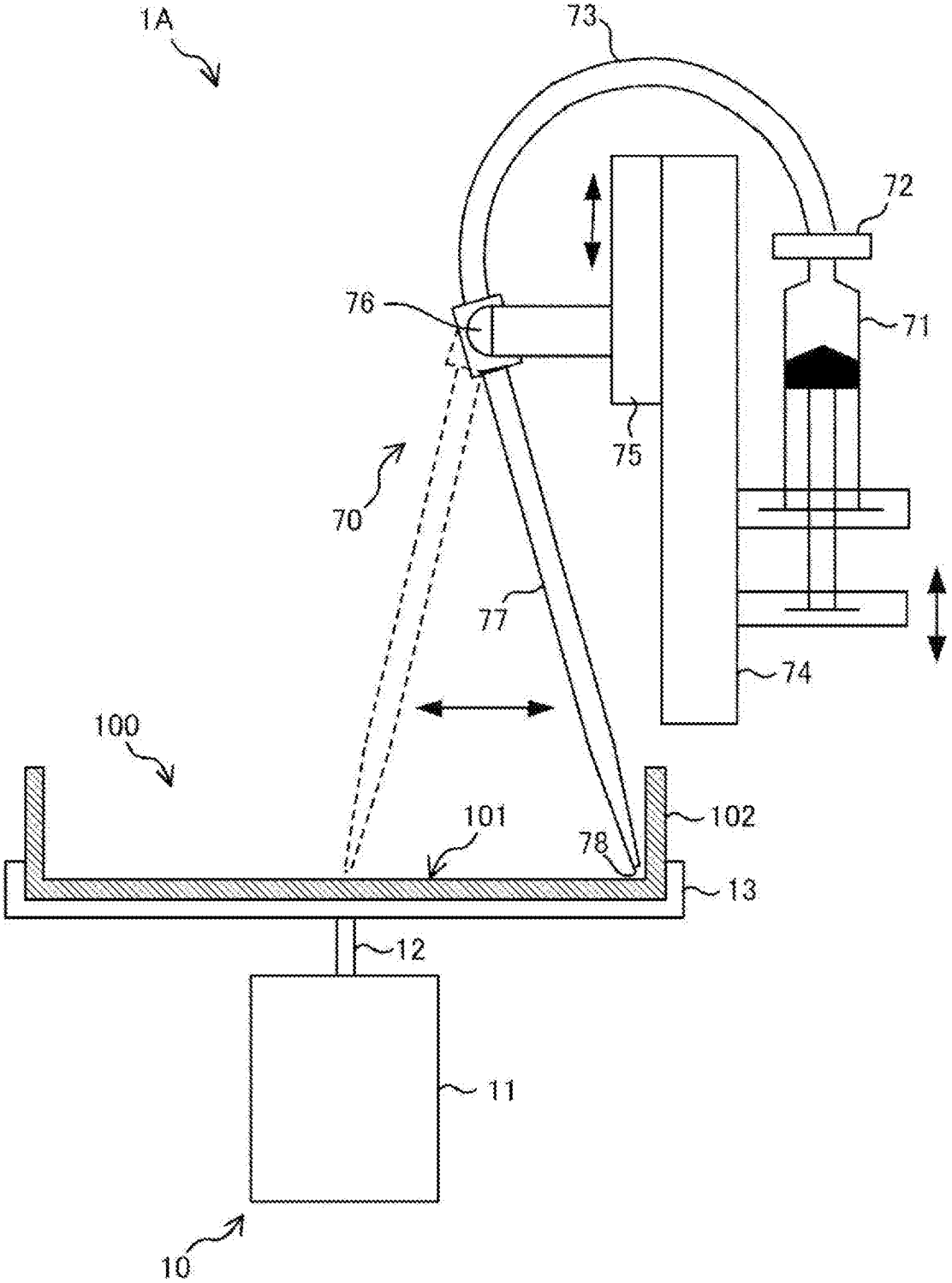
[図10C]



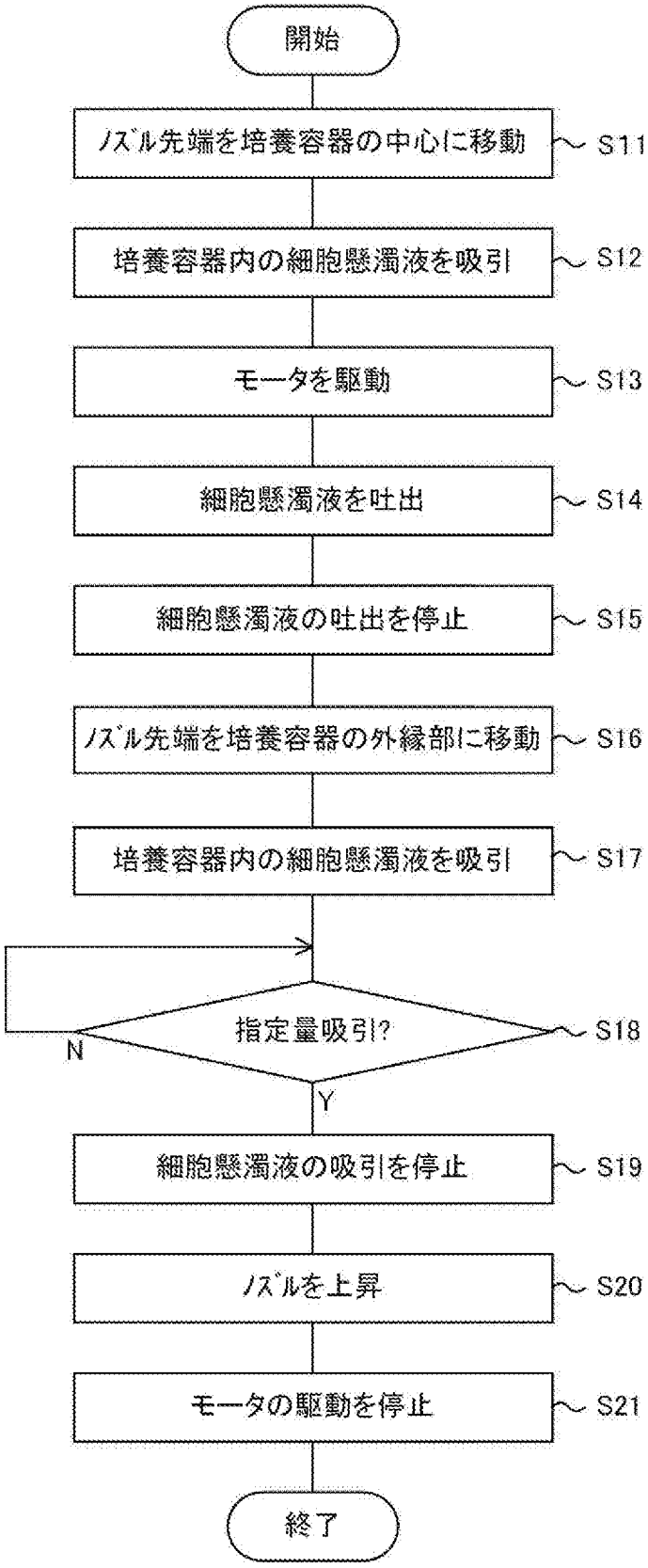
[図11]



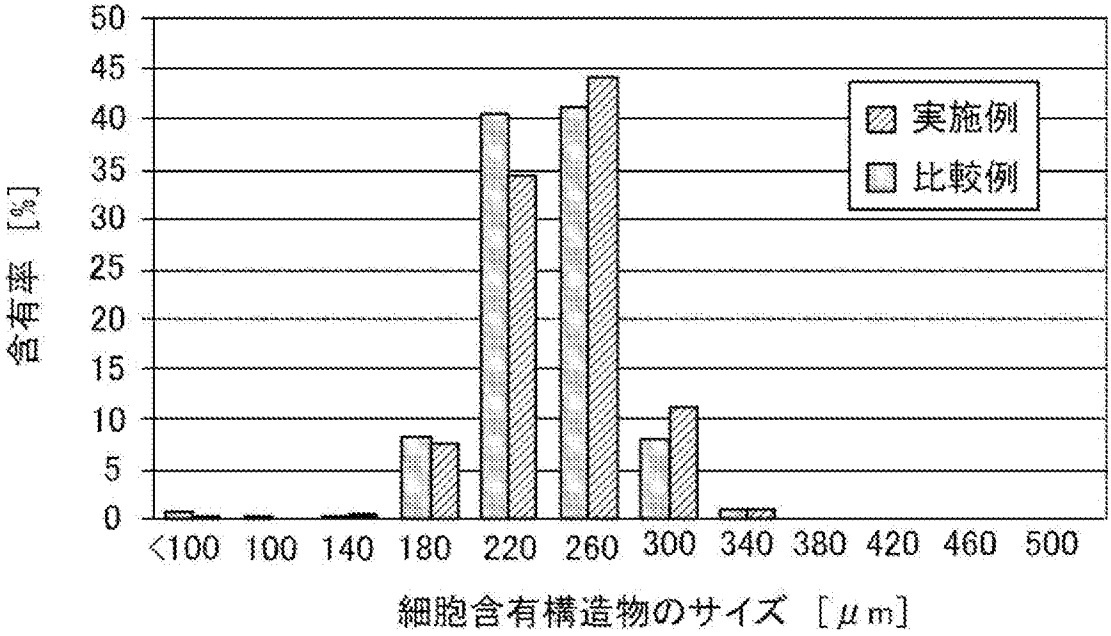
[図12]



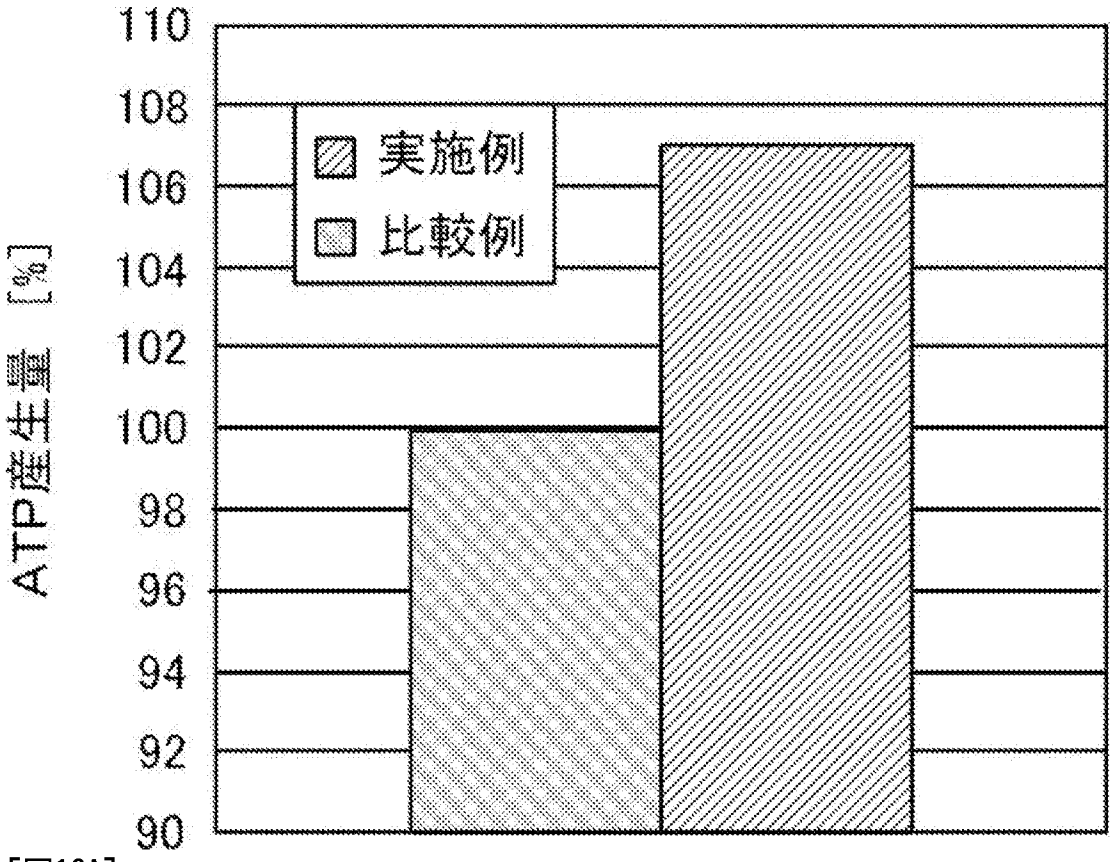
[図13]


開始
ノズル先端を培養容器の中心に移動
S11
培養容器内の細胞懸濁液を吸引
S12
モータを駆動
S13
細胞懸濁液を吐出
S14
細胞懸濁液の吐出を停止
S15
ノズル先端を培養容器の外縁部に移動
S16
培養容器内の細胞懸濁液を吸引
S17
指定量吸引?
S18
N
Y
細胞懸濁液の吸引を停止
S19
ノズルを上昇
S20
モータの駆動を停止
S21
終了

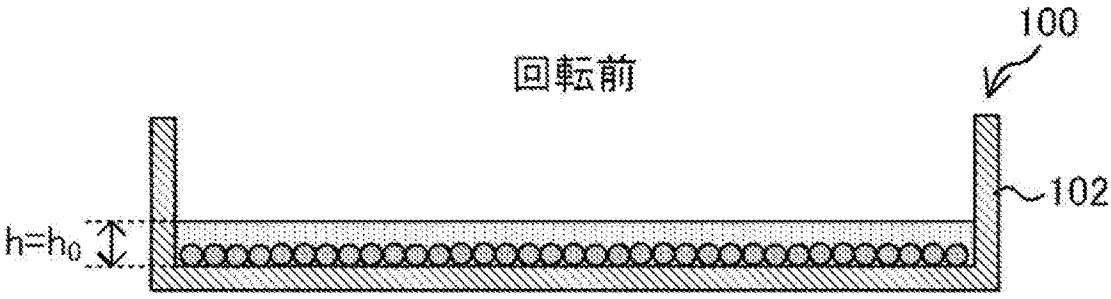
[図14]


50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
含有率［%］
実施例
比較例
<100
100
140
180
220
260
300
340
380
420
460
500
細胞含有構造物のサイズ［μm］

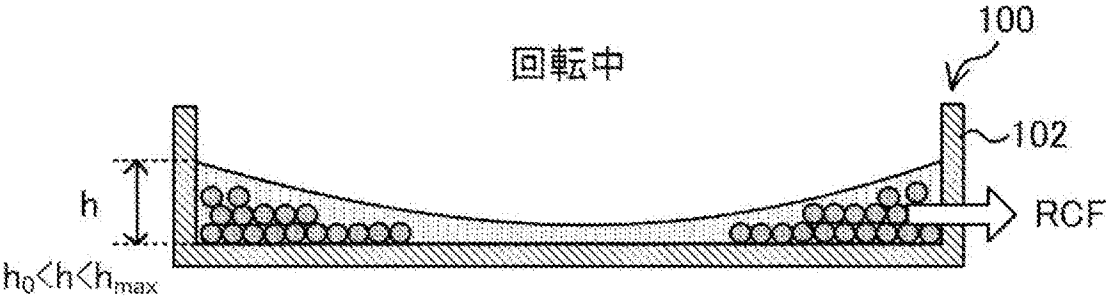
[図15]


110
108
106
104
102
100
98
96
94
92
90
ATP産生量［%］
実施例
比較例

[図16A]


回転前
100
102
h=h0

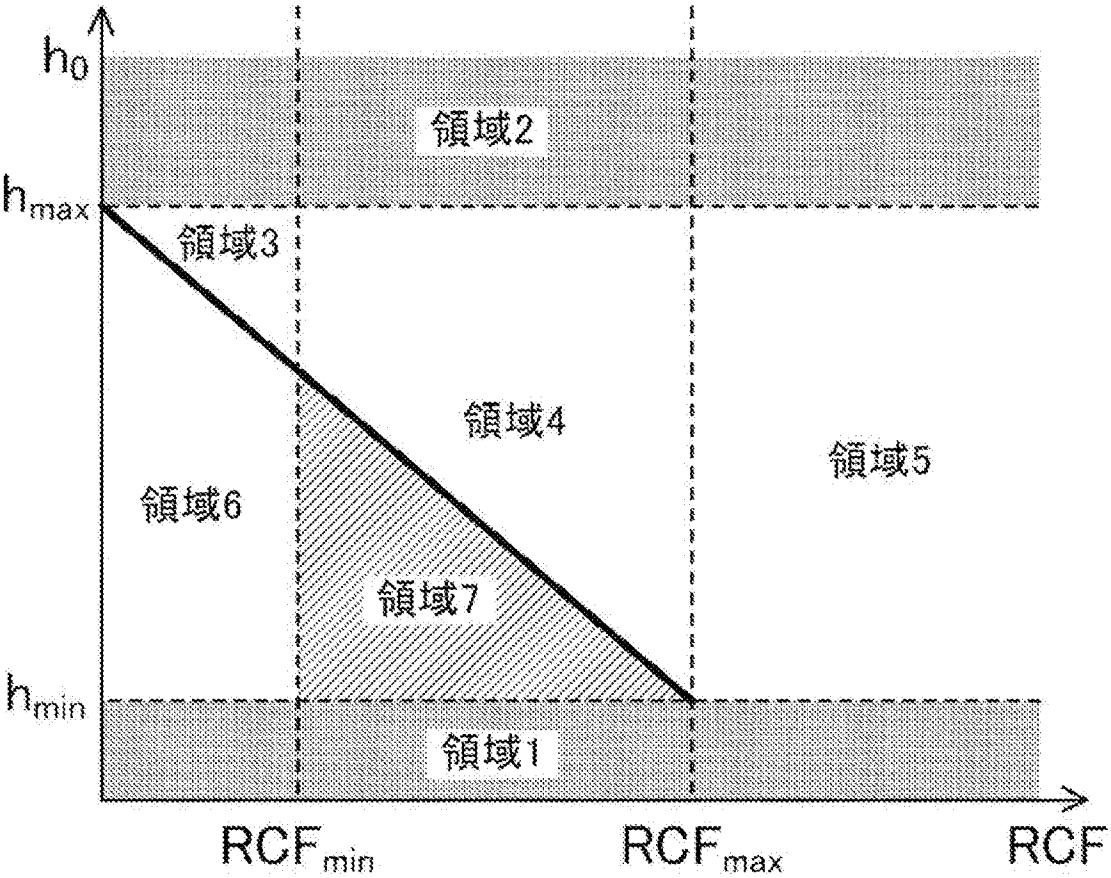
[図16B]



[図16C]



[図17]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/002925

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. C12M1/10(2006.01)i, C12N5/00(2006.01)i
FI: C12M1/10, C12N5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl. C12M1/10, C12N5/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2010-148451 A (OLYMPUS CORPORATION) 08.07.2010 (2010-07-08)	1-9
A	JP 2017-201946 A (PANASONIC CORPORATION) 16.11.2017 (2017-11-16)	1-9
A	JP 2012-55226 A (OLYMPUS CORPORATION) 22.03.2012 (2012-03-22)	1-9
A	JP 2005-237274 A (HATAKE, Kenichiro) 08.09.2005 (2005-09-08)	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03.04.2020	14.04.2020

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2020/002925

JP 2010-148451 A	08.07.2010	(Family: none)
JP 2017-201946 A	16.11.2017	(Family: none)
JP 2012-55226 A	22.03.2012	(Family: none)
JP 2005-237274 A	08.09.2005	(Family: none)

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/002925

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12M 1/10(2006.01)i; C12N 5/00(2006.01)i
FI: C12M1/10; C12N5/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12M1/10; C12N5/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２０年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２０年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２０年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 2010-148451 A (オリンパス株式会社) 08.07.2010 (2010-07-08)	1-9
A	JP 2017-201946 A (パナソニック株式会社) 16.11.2017 (2017-11-16)	1-9
A	JP 2012-55226 A (オリンパス株式会社) 22.03.2012 (2012-03-22)	1-9
A	JP 2005-237274 A (畠 賢一郎) 08.09.2005 (2005-09-08)	1-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
03.04.2020	14.04.2020

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
平林　由利子 4N 3634
電話番号 03-3581-1101 内線 3448

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2020/002925

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2010-148451 A	08.07.2010	（ファミリーなし）	
JP 2017-201946 A	16.11.2017	（ファミリーなし）	
JP 2012-55226 A	22.03.2012	（ファミリーなし）	
JP 2005-237274 A	08.09.2005	（ファミリーなし）	